20695 Nr 21.

Lane Medical Library

BEITRÄGE

zur

Kenntniss des Frauencaseïns

und seiner

Unterschiede vom Kuhcaseïn.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOCTORWÜRDE

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FACULTÄT

DER

UNIVERSITÄT BERN

VORGELEGT VON

AUGUSTIN WRÓBLEWSKI
aus Wilna.

1894.

Einleitung.

Die erste Stelle in der Reihe der wichtigsten menschlichen Nahrungsmittel gehört der Frauenmilch, als dem von der Natur selbst gebotenen Nährstoffe des jungen Menschen. Die Ernährung mit derselben bildet eine unmittelbare Fortsetzung der bisher im Fötalleben geschehenen.

An der quantitativen Zusammensetzung der Frauenmilch lernen wir den Bedarf des Kindes an den einzelnen Nährstoffen kennen. Das Studium derselben in qualitativer Hinsicht belehrt uns, in welcher physikalischen und chemischen Form die Nahrung von der Natur selbst dem Kinde dargeboten wird.

Trotz alledem, dass die Frauenmilch ein so wichtiges Nahrungsmittel und dem Forscher verhältnissmässig leicht zugänglich ist, so ist sie bis jetzt doch nur wenig bekannt. Man hat zwar schon im vorigen Jahrhundert die Unterschiede zwischen der Frauen- und der Kuhmilch bemerkt und später auch näher kennen zu lernen gesucht, um sie eventuell beseitigen zu können, allein man vermochte die sich darbietenden Schwierigkeiten nicht zu überwinden.

An Bemühungen in dieser Hinsicht hat es nicht gefehlt, denn die Frage der künstlichen Kinderernährung wurde immer brennender, je mehr man erkannte, wie äusserst wichtig gerade die Ernährung im ersten Jahre des Lebens für die weitere Entwicklung des Kindes ist.

Worin die grossen Schwierigkeiten liegen, werden wir sofort erkennen, wenn wir einen Blick auf die bisherigen Arbeiten in dieser Richtung werfen.

Bei den Beobachtungen und Untersuchungen wurde die Aufmerksamkeit hauptsächlich auf die in der Milch befindlichen Eiweissstoffe, als die wichtigsten stickstoffhaltigen Nährsubstanzen gerichtet.

Im Alterthum wurde schon die Aufmerksamkeit von *Aristoteles*[1]) auf die Eigenschaften der Frauenmilch gelenkt und er giebt in seinen Schriften eine eingehende Beschreibung derselben.

Die zweite Hälfte des XVIII. Jahrhunderts, die in allen Zweigen der Wissenschaft so fruchtbar gewesen, war auch an Forschern auf dem uns hier interessirenden Gebiete reich.

Der erste, mir bekannte, von ihnen war *Bergius,* der im Jahre 1772 die Wirkung des vierten Kalbsmagens auf die Frauenmilch untersuchte und dabei keine Veränderungen bemerken konnte.[2]) Die meisten Säuren konnten in der Kälte auch keine Wirkung ausüben. In der Wärme bemerkte er Niederschläge auf Zusatz von Salzsäure und Salpetersäure. Die Zugabe von Alkohol, wie auch von Essigsäure haben einen Niederschlag hervorgerufen.[3])

Ungefähr in derselben Zeit sprach *Joung* seine Ansicht aus, dass die Unterschiede zwischen Menschen- und Kuhmilch bloss auf quantitativer Verschiedenheit ihrer Zusammensetzung beruhen.[4])

Nach *Voltelen*'s Untersuchungen zeichnete sich Frauenmilch durch ihr verschiedenes Verhalten gegen Reagentien im Vergleich mit anderen Milcharten aus.[5])

---

[1]) *Aristoteles.* Historiæ animalium. III. Citirt nach *Makris*: „Studien über die Eiweisskörper der Frauen- und Kuhmilch." Inaugural-Dissertation. Strassburg. 1876.

[2]) Citirt nach *Biedert* (s. a. a. O.). Manche Angaben von *Biedert* über *Bergius*' Versuche (den er *Berg* nennt) stimmen mit dem unten angegebenen Citate nicht.

[3]) *J. Bergius.* Schwed. academ. Abhandlung. Band XXXIV. „Es scheint wunderbar, dass die Milch (Frauenmilch) von Vitriolsäure nicht gerinnt und doch von Essig, da doch jene Säure macht, dass Kuhmilch stärker gerinnt als vom Essig. In der Chemie kommen aber mehr ähnliche Fälle vor, z. B. das Oleum Vitrioli löset Gold nicht auf, aber wohl Aqua Regis, obgleich nach der allgemeinen Meinung das Acidum Vitrioli eine stärkere Säure ist. Das Oleum Vitrioli wirkt nicht auf die Frauenmilch, der Spiritus Salis aber verursacht ein vollkommenes Gerinnen." Citirt nach *Ferris* (s. a. a. O.).

[4]) Dr. *Joung.* De Lacte. Citirt nach *Ferris* (s. a. a. O.).

[5]) *Voltelen.* De lacto humano eiusque cum asinino et ouillo comparatione. — „Nullum est lac, quod acidis tantopere resistit, quam humanum." — „Ab alcalinis minus etiam promt coagulatur humanum lac, quam asininum, aut ouillum." Citirt nach *Ferris* (s. a. a. O.). Die Zeit der Erscheinung seiner Schrift ist mir unbekannt.

Im Jahre 1787 beobachtete *Ferris*[1]), dass „die Frauenmilch nach Beimischung“ verschiedener „Substanzen, des Alcali sowohl, als des Labes ohne alle Veränderung blieb“, während Kuhmilch unter diesen Umständen geronnen war (S. 42). An anderem Orte, bei Zusammenfassung seiner zahlreichen Versuche, sagt er folgendes: „In der Menschenmilch bewirkte keine von diesen angeführten Säuren die geringste Veränderung, doch wurde sie von deren Beimischung noch etwas heller und durchsichtiger. Schliesslich concludirt er, dass die Verschiedenheit lediglich die verhältnissmässige Menge betrifft, und keine wesentlichen Unterschiede in Ansehung der allgemeinen Eigenschaften, oder der ganz eigenen Beschaffenheit der Bestandtheile der Milch ausmacht.“ (S. 45.)

Russly erhielt bei Zusatz von Lab einen Klumpen in der Frauenmilch.

Aehnliche Resultate wie *Bergius* haben auch französische Forscher, *Stipriaan*, *Luiscius* und *Bondt*[2]) gefunden. Nach ihnen „ändern mineralisches und Gewächslaugensalz, ätzendes und nicht ätzendes, die Frauenmilch nicht“ (S. 171). „Von Lab aus Kälbermagen gerinnt sie auch in der Wärme und Ruhe nicht.“ (S. 172). „Käse haben sie nur dann bekommen, wenn sie die Milch „von selbst sauer werden“ liessen.“ (S. 176). „Vitriolsäure, Salpeter und Kochsalzsäure, Flussspathsäure, fixe Luft, Essig-, Phosphor-, Zucker-, Weinsteinsäure und Citronensaft brachten keine Veränderung zu Wege“. (S. 170).

Boyssou hat in der Frauenmilch bei Behandlung derselben nach *Scheele*'s Vorschrift nur wenig Käsestoff gefunden.[3])

---

[1]) Dr. *Samuel Ferris*. „Ueber die Milch.“ Eine *Hervey*ische gekrönte Preisschrift der königlichen Gesellschaft der Aerzte zu Edinburg. Deutsche Uebersetzung. 1787.

[2]) *Crell*'s chem. Annal. 1794. „Der Herren *Abr. von Stipriaan, Luiscius* und *D. Bondt* Untersuchung und Vergleichung der Frauen-, Kuh-, Ziegen-Eselinnen-, Schaf- und Stutenmilch, nach ihren physischen und chemischen Eigenschaften.“ Schon in den Jahren 1787 und 1788 in den Berichten der Pariser Academie erschienen.

[3]) *Crell*'s chem. Annal. 1794. „Herrn *Boyssou* Untersuchungen über die Frauen-, Kuh-, Ziegen-, Eselinnen-, Schaf- und Stutenmilch.“ In den Berichten der Pariser Academie zusammen mit den *Stipriaan*'schen erschienen.

Auch *Clarke*[1]) hat es vergebens versucht, Frauenmilch durch Säuren zum Gerinnen zu bringen. Er beschreibt seine Versuche in folgender Weise: „Ich habe es mit allen möglichen Säuren, brennbaren Geistern, Aufguss von Kälbermagen u. dergl. in verschiedenen Verhältnissen und bey mancherley Stuffen von Wärme versucht, und habe eine grössere Mannigfaltigkeit von Frauenmilch zur Prüfung gehabt als alle die Aerzte, welche sich bisher damit beschäftigten, aber einen oder zween Fälle ausgenommen, konnte ich nichts geronnenes wahrnehmen“ (S. 180). Ebenso konnte er von einem heissen Auszuge aus einem Kindermagen keine Wirkung auf die Frauenmilch beobachten, während in der Kuhmilch dadurch ein Coagulum entstand (S. 182). Aus seinen Forschungen schliesst er, dass „Frauenmilch keinen, oder doch so wenigen käsigen Stoff enthält, dass er sich kaum erweisen lässt“ (S. 180).

Die im XVIII. Jahrhundert errungenen Resultate in der uns interessirenden Frage waren einerseits zahlreich, anderseits aber nicht übereinstimmend mit einander, so dass am Schlusse des Jahrhunderts *Parmentier* und *Deyeux*[2]) mit vollem Recht beklagen konnten, dass „alle Untersuchungen, die man zur Vergleichung der Frauenmilch mit der Kuhmilch anstellte, so wenig befriedigende Aufschlüsse gegeben haben.“ (S. 247). Ihre Ansicht über die Unterschiede der beiden Milcharten ist der von *Ferris* ähnlich.

Auch *Neubeck*[3]) hat die Beobachtungen von *Ferris* bestätigt.

Im Jahre 1826 hat *Meggenhofen*[4]) das Verhalten der Frauenmilch gegen verschiedene Reagentien untersucht und bei Proben verschiedener Herkunft verschiedene Resultate bekommen. So sah er auf Zusatz von Quecksilberchlorid unter 12 Versuchen nur 6 Mal Gerinnung eintreten. Er war der erste, welcher genauere

[1]) *Crell*'s chem. Annal. 1795. „*Jos. Clarke* über die Eigenschaften, welche die Aerzte gewöhnlich der Frauenmilch zuschreiben, die Veränderungen, welche sie bey der Verdauung erleidet, und die Krankheiten, welche man bey Kindern aus dieser Quelle ableitet.“ Der Irländischen Academie im Jahre 1788 vorgelegt.

[2]) „Neueste Untersuchungen und Bemerkungen über die verschiedenen Arten der Milch in Beziehung auf die Chemie, die Arzeneykunde und die Landwirthschaft, von den Bürgern *A. Parmentier* und *N. Deyeux*.“ 1805. Zweite deutsche Ausgabe.

[3]) *Neubeck*. De lacte. Inaugural-Dissertation. Berlin. 1825.

[4]) *Meggenhofen*. Dissert. inaug. sistens indigationem lactis muliebris chemicam. 1826. Citirt nach *Simon* (l. c.).

Analysen der Frauenmilch gemacht und das Frauencaseïn daraus abgeschieden hat. Zu dem Zweck kochte er den Trockenrückstand der Frauenmilch mit Alkohol und zog dann denselben mit reinem Wasser aus. Das Wasserextract enthielt einen Theil des Zuckers und sogen. lösliches Caseïn, im Rückstande blieb die Hauptmenge des Eiweisses, sogen. unlösliches Caseïn.

Kurz nachher hat *Payen*[1]) das Caseïn in der Frauenmilch nach einem allerdings ungenügenden Verfahren bestimmt. Der mit Alkohol und Wasser ausgewaschene Trockenrückstand der Milch sollte das reine Frauencaseïn vorstellen.

„Die wesentliche Eigenthümlichkeit der Frauenmilch besteht" nach *Berzelius*[2]) „darin, dass das in derselben aufgelöste Caseïn mit den Säuren lösliche Verbindungen bildet, wesshalb also diese Milch durch Säuren nicht coagulirt wird." (S. 697).

Im Jahre 1838 hat *Simon* seine interessanten Versuche ausgeführt, welche in das über die Frauenmilch herrschende Dunkel etwas Licht brachten, und für die weiteren Untersuchungen werthvolle wissenschaftliche Anhaltspunkte gegeben haben. Er beobachtete oft die Anwesenheit des Albumins[3]) in der Frauenmilch, während viele spätere Forscher, fast bis in die letzte Zeit, das Vorhandensein des Albumins, wie wir sehen werden mit Unrecht, angefochten haben. Er hat Unterschiede zwischen Kuh- und Frauenmilch festgestellt, und zwar nicht nur in quantitativer, sondern auch in qualitativer Hinsicht. So bemerkt er, dass Kuhmilch einen grossen, in Wasser unlöslichen Rückstand nach dem Verdampfen hinterlässt, während von der Frauenmilch nur sehr wenig unlöslich bleibt. Nach seinen Beobachtungen sollte die Schleimhaut eines Kindermagens die Frauenmilch vollständiger zur Gerinnung bringen, als die des Kälbermagens.[4])

Simon nahm zwei Caseïnarten in der Frauenmilch an: das flüssige (gelöste) und das coagulirte, welches die Hüllen der Fettkügelchen bilden sollte. Er hat die *Meggenhofen*'sche Darstellungsweise insofern verbessert, als er anstatt mit Alkohol den

[1]) *Payen.* Examen comparatif du lait de plusieurs femmes et de chèvres. 1828. Citirt nach *Makris* (l. c.).

[2]) *Berzelius.* Lehrbuch der Chemie. Band 9. 1840.

[3]) *Simon.* Physiologische und pathologische Anthropochemie. 1842.

[4]) *Simon.* „Die Frauenmilch nach ihrem chemischen und physiologischen Verhalten." Inaug.-Dissert. Berlin. 1838.

Trockenrückstand mit Aether auskochte. Er hat schon bemerkt, dass bei dieser Darstellungsart das Abdampfen einen schädlichen Einfluss auf die Löslichkeit des Frauencaseïns ausüben kann[1]), wusste aber nicht, wie man diesen Uebelstand vermeiden sollte.

Einen Unterschied vom Kuhcaseïn sieht *Simon* in der Unfällbarkeit des Frauencaseïns durch Schwefelsäure, Milchsäure, Salzsäure. Er betont auch die Fällbarkeit des Frauencaseïns mit Essigsäure und seine schwache Löslichkeit, sogar in starkem Alkohol; es sind dies Thatsachen, welche von späteren Forschern mit Unrecht (wie wir unten zeigen werden) angefochten worden sind.

Bei der quantitativen Analyse hat er in der Kuhmilch doppelt so viel Caseïn gefunden, als in der Frauenmilch. Die Eselinnenmilch wurde von ihm als die der Frauenmilch nächststehende angegeben.

Ausserdem hat *Simon* vergleichende Verdauungsversuche gemacht, indem er zwei gleich grosse Klumpen von Frauencaseïn und Kuhcaseïn in zwei Stücke eines Kindermagens einwickelte und diese mit einer verdünnten Salzsäure befeuchtete. Das Frauencaseïn war einige Stunden früher verdaut. Diesen bemerkenswerthen Versuchen stehen spätere von *van Bueren* gegenüber, welcher angab, dass Frauenmilch im Rindsmagen rascher und im Kälbermagen seltsamerweise langsamer verdaut wurde, als die Kuhmilch.

Etwas später, im Jahre 1844, suchten *Chevalier* und *Henry*[2]) das Frauencaseïn rein darzustellen, um es quantitativ zu bestimmen. Sie coagulirten die Frauenmilch beim Kochen durch Essigsäure und den mit Alkohol ausgewaschenen Niederschlag betrachteten sie als reines Caseïn.

In derselben Zeit haben sich mit den Untersuchungen des Frauencaseïns und dessen quantitativer Bestimmung *l'Heritier, Hailden, Clemm*,[3]) *Griffith, Elsässer, Brunner*[4]) u. A. beschäftigt. Etwas später haben *Verrois* und *Becquerel*[5]) eine wenig zuverlässige analytische Methode angegeben.

[1]) *Simon.* Medicinisch-analytische Chemie. 1840. S. 72.

[2]) Citirt nach *Makris* (l. c.)

[3]) *Clemm.* Inquis. chem. ac microscop. in mulier. ac bestiar. complurium lac. In.-Diss. Göttingen. 1845.

[4]) *Brunner.* Ueber die Zusammensetzung der Frauenmilch. Pflüger's Archiv. VII. 440.

[5]) *Verrois* und *Becquerel.* Du lait chez la femme. Paris. 1853. Citirt nach *Pfeiffer* (l. c.)

Der bekannte physiologische Chemiker *Lehmann* beschäftigt sich in seinen Werken mit der uns interessirenden Frage sehr wenig. An einer Stelle[1]) sagt er folgendes: „Obgleich das Caseïn der Frauenmilch beim Gerinnen durch Lab gewöhnlich ein viel lockereres, gallertartiges Coagulum bildet, als die Kuhmilch, so ist doch das des Menschen, der Kuh und der Hunde, alten Erfahrungen nach, identisch.“ (S 241). Und an einem anderen Orte[2]) sagt er folgendes: „Diese Unterschiede dürften indessen wohl später in manchen äusseren Verhältnissen, in den beigemengten Substanzen ihre Erklärung finden; so glaube ich z. B., dass das gallertartige Gerinnen der Frauenmilch mehr von der alkalischen Flüssigkeit bedingt wird.“ (S. 387).

Heintz sagt in seinem Lehrbuche, bei Besprechung der *Simon'schen* Ansichten vorübergehend nur folgendes: „Unterschiede in den Reactionen der Milch verschiedener Thiere möchten wohl nur in der verschiedenen Mischung der dem Caseïn in den verschiedenen Milcharten beigemengten Substanzen ihren Grund finden.“[3])

Bouchardat und *Quevenne*[4]) haben gefunden, dass Frauenmilch mit Essigsäure oder Salzsäure erhitzt, selten mit blossem Auge sichtbare Coagulation giebt, dieselbe ist oft auch mit dem Mikroskop nicht zu ersehen. Schwefelsaure Magnesia wirkte ebenso, wie bei der Kuhmilch, nur weniger auffallend.

Erst im Jahre 1867 hat *Tolmatscheff*[5]) die Fällbarkeit des Frauencaseïns aus der Milch durch Magnesiumsulfat mit Sicherheit constatirt. Er hat „der Frauenmilch krystallisirte schwefelsaure Magnesia solange zugesetzt, bis sie sich nicht mehr löste, hierauf wurde die Milch filtrirt, der auf dem Filter gesammelte Niederschlag gewaschen“ u. s. w.

Bei Beschreibung seiner Untersuchungen betont *Tolmatscheff* stark die von ihm beobachteten Schwierigkeiten. So sagt er, dass „die Filtration mehrere Tage in Anspruch nimmt.“ (S. 277.) Ueber die Fällung mit Essigsäure sagt er folgendes: „Die Frauenmilch

---

[1]) *Lehmann.* Handbuch der physiologischen Chemie. 1859.

[2]) *Lehmann.* Lehrbuch der physiologischen Chemie. 1. Band. 1850.

[3]) *W. Heintz.* Lehrbuch der Zoochemie. 1853.

[4]) *Bouchardat* und *Quevenne.* Du lait. 1857. Citirt nach *Radenhausen* und *Makris* (S. a. a. O.).

[5]) *Tolmatscheff.* Zur Analyse der Milch. *Hoppe-Seyler,* Medic.-chem. Untersuchungen. Heft 2. 1867.

gerann unter Zusatz von Essigsäure nicht und blieb trotz des Zusatzes nach wie vor undurchsichtig: die einzige Veränderung derselben bestand darin, dass sie nach mehreren Stunden sich abzurahmen anfing.“ (S. 273.)

In seinen quantitativen Bestimmungen, die er hauptsächlich mittelst Alkoholfällung ausgeführt hat, fand er 1—4% Caseïn und Albumin zusammen; mit Magnesiumsulfat aber — 1,2% Caseïn.

Diese Angaben stimmen mit denen von *Meigs* überein.

Das Präparat von *Tolmatscheff* war aschenreich und die Asche „enthielt schwefelsaure Magnesia.“

Die Fällbarkeit der Frauenmilch mit schwefelsaurer Magnesia konnte *Biedert* in seinen Versuchen nicht bestätigen.[1]) (S. 29.)

Etwas später behauptete *W. Kirchner*,[2]) dass „Pepton schon präformirt in der Milch enthalten ist.“ Er sagt weiter: „Vielleicht liegt auch hierin eine Ursache des Unterschiedes, den das Caseïn verschiedener Milchsorten bietet, wie z. B. der zwischen Frauen- und Kuhcaseïn, deren leichtere oder schwerere Ueberführbarkeit in Peptone.“ (S. 43.)

In der schon erwähnten Arbeit tritt *Biedert* entschieden für die chemische Verschiedenheit des Kuh- und Frauencaseïns ein. Seine zahlreichen, mit Labmagensaft ausgeführten Coagulationsversuche zeigen, dass „die Verschiedenheit der Menschen- und Kuhmilchcoagula nicht abhängig von dem ungleichen Caseïngehalte beider Milcharten ist“, und auch nicht vom verschiedenen Alcaligehalte. (S. 11.)

Die verschiedenen Verdauungsversuche, die *Biedert* mit Frauen- Kuhmilch und verschiedenen künstlichen Mischungen der letzten mit Wasser, sogenannten Kindermehlen etc. ausgeführt hat, sprechen

---

[1]) *Biedert.* Untersuchungen über die chemischen Unterschiede der Menschen- und Kuhmilch. Inaugural-Dissertation. Giessen. 1869. 2. Auflage. 1884.

Biedert sagt in der ersten Auflage seiner Arbeit, dass er „einen Grund dieser verschiedenen Resultate nicht kennt.“ In der zweiten Auflage aber steht an der Stelle des vorigen Satzes folgendes: „Auch erweckt die Beschreibung von *Tolmatscheff* selbst über seine Fällungen wenig Vertrauen.“ Der Befund von *Tolmatscheff* war noch im Jahre 1881, also drei Jahre vor der zweiten Ausgabe der *Biedert*'schen Arbeit, von *Radenhausen* bestätigt worden. *Radenhausen.* Zeitschrift für Physiol. Chem. V. 1881.

[2]) *Kirchner.* Beiträge zur Kenntniss der Kuhmilch und ihrer Bestandtheile. Dresden. 1877.

entschieden für die leichtere Verdaulichkeit der ersteren, die nur von einer verschiedenen Beschaffenheit des Caseïns abhängen kann.[1])

Die Prüfungen der Wirkung verschiedener Reagentien auf die Frauenmilch ergaben bei *Biedert* das merkwürdige Resultat, dass keine Säure einen Niederschlag in der Milch hervorbrachte. Er konnte einen solchen nur durch Tannin, Alkohol oder Sublimat erhalten.

Einige Jahre später hat *Biedert* seine interessanten Versuche „an reinem Caseïn" aus Frauen- und Kuhmilch wiederholt.[2]) Die Resultate waren ungefähr dieselben, wie mit den entsprechenden Milcharten selbst. Das angebliche Frauencaseïn waren die mit Alkohol niedergeschlagenen und entfetteten Eiweisskörper. Dasselbe war „erdig-gelblich-weiss, getrocknet war es dunkel, mehr körnig als das Kuhcaseïn, reagirte neutral, oder ganz leicht basisch." Trotzdem hier keine höhere Temperatur, wie bei *Simon,* angewandt wurde, musste doch der Alkohol, in der Weise, wie er verwendet wurde, ungünstig wirken.

Bei Besprechung seiner Säureversuche bemerkt *Biedert,* dass „durch Behandeln der Menschenmilch mit verdünnter Milchsäure, das Caseïn derselben sich in eine unlösliche saure Modification des Menschencaseïns verwandeln lässt."

In der Zeit zwischen den beiden *Biedert*'schen Arbeiten hat *Kehrer*[3]) Versuche über die Filtration der beiden Milcharten durch eine Thonzelle ausgeführt. Der Rückstand bestand aus Fett und Caseïn. Er hat den Rückstand aus der Kuhmilch mit dem Filtrat der Frauenmilch und umgekehrt gemischt und dann mit verschiedenen Reagentien geprüft; es hat sich dabei herausgestellt, dass das Verhalten hauptsächlich vom Rückstande, nicht vom Serum abhängig war. Daraus schliesst er, „dass das Caseïn der Frauen-

[1]) Ausserdem führt *Biedert* folgenden Versuch an: „Zwei junge Hündchen, eines mit Menschen- und eines mit Kuhmilch gefüttert, wurden nach einigen Stunden getödtet. Als Reste der Kuhmilch zeigten sich einige grosse trockene derbe Coagula; von der Menschenmilch war an den Magenwänden eine geringe Menge halbgelatinöser Masse zu sehen, die man kaum ein Coagulum nennen konnte." (S. 34.).

[2]) *Biedert.* Neue Untersuchungen und kleine Beobachtungen über Menschen- und Kuhmilch als Kindernahrungsmittel. Virch. Arch. Bd. LX. 1874.

[3]) *Volkmann*'s Samml. klin. Vortr. No. 70. *Kehrer.* Die erste Kindernahrung.

milch eine andere chemische Zusammensetzung hat, dass darin die Atome anders gruppirt sind, als in dem Caseïn der Kuhmilch." (S. 525).

Etwas später hat *A. Langgaard* Kuh-, Frauen- und Stutencaseïn verglichen und die Eigenschaften der beiden letzteren einander ähnlicher und gegenüber dem der Kuhmilch verschieden gefunden.[1])

Im folgenden Jahre hat *Makris*[2]) die Bestimmung des Kohlenstoffs, Wasserstoffs und Stickstoffs im Frauencaseïn ausgeführt. Er hat zu diesem Zwecke die Frauenmilch mit $MgSO_4$ versetzt, „die Niederschläge behandelte er mit Alkohol, erwärmte auf dem Wasserbade, filtrirte warm und wusch mit heissem Wasser aus." (S. 30). Dabei hat er ein graues Präparat bekommen, welches 2% Asche enthielt und die Anwesenheit von Spuren Schwefelsäure und Magnesia zeigte. (S. 29). Er betrachtete das Caseïn als einen wasserlöslichen Stoff. (S. 18).

Das Kuhcaseïn wurde nach einer anderen Methode dargestellt, da es sich merkwürdigerweise zeigte, dass das „Kuhcaseïn in gesättigter schwefelsaurer Magnesialösung, bei Gegenwart von Essigsäure und Alkohol oder ohne dieselben löslich ist." (S. 34).

Bei seinen Elementaranalysen hat *Makris* folgende Werthe erhalten:

Elemente	Frauencaseïn	Kuhcaseïn
C	52,353 %	53,622 %
H	7,266 %	7,422 %
N	14,650 %	14,200 %

„Die Schwefel- und Phosphorsäurebestimmung gelang" ihm „wegen der geringen Quantität der reinen Substanz nicht." (S. 31).

[1]) Virch. Arch. Bd. LXV. 1875. *Alexander Langgaard.* Vergleichende Untersuchungen über Frauen-, Kuh- und Stutenmilch. Auf Seite 6 sagt er folgendes: „Vergleichende Verdauungsversuche ergaben, dass das Kuhcaseïn weit schwerer verdaut wird als Frauencaseïn und Stutencaseïn und zeigten ferner, dass das Stutencaseïn fast ebenso schnell wie das Frauencaseïn verdaut wird." Und weiter sagt er, „dass das Stutencaseïn mit dem Menschencaseïn zwar nicht identisch ist, in seinem chemischen Verhalten aber demselben sehr nahe steht.

[2]) *Makris.* Studien über die Eiweisskörper der Frauen- und Kuhmilch. Inaugural-Dissertation. Strassburg. 1876.

Bei seinen zahlreichen Frauenmilch-Analysen hat *Makris* im Mittel 3 % Frauencaseïn gefunden.

Einige Jahre später wurden verschiedene Ansichten über die Eiweissstoffe der Milch ausgesprochen, welche jedoch wenig geeignet waren, die Sachlage zu klären.

So hat *Danilevsky* behauptet, dass Frauenmilch kein Caseïn enthält, dieser Ansicht huldigte auch *Radenhausen*[1]), indem er sagte, dass „Frauenmilch kein Caseïn enthält, sondern nur ein Albumin mit geringen Beimengungen von Protalbstoffen und Pepton, wie sich solche schon im Blute finden."

Im Jahre 1882 hat *Pfeiffer*[2]) etwas Licht in die Sache gebracht, indem er zeigte, unter welchen Umständen das Frauencaseïn durch Säuren aus der Milch gefällt wird; er ermittelte die hierzu erforderlichen Säuremengen, sowie die beste Temperatur (30—40 °R.). Dadurch wurde der Säurecharakter des Frauencaseïns nachgewiesen, was für Kuhcaseïn schon früher von *Hammarsten*[3]) geschehen war.

Pfeiffer benützte die von ihm festgestellte Thatsache der Fällbarkeit der Frauenmilch durch Säuren zur Darstellung und quantitativen Bestimmung des Frauencaseïns.

Zu derselben Zeit wurde von *J. Schmidt*[4]) behauptet, dass Kuh- und Frauenmilch dieselben Eiweissstoffe enthalten, nur in ganz anderen Mengenverhältnissen. Ausser Caseïn und Albumin giebt er an, Hemialbumose gefunden zu haben.

Kurz nachher, auf eine ähnliche Ansicht gestützt, hat *Struve*[5]) verschiedene Quantitäten vom unlöslichen und löslichen Caseïn,

---

[1]) *Radenhausen.* Die Frauenmilch. Zeitschrift für physiol. Chemie. V. p. 13. 1881.

[2]) Berlin. klin. Wochenschrift. 1882. Dr. *E. Pfeiffer.* Verschiedenes über Muttermilch. Jahrbuch für Kinderheilkunde. N. F. B. XIX. 1883. Dr. *E. Pfeiffer.* Kritische Untersuchungen über Muttermilch und Muttermilchanalysen.

[3]) *Hammarsten.* Zur Kenntniss des Caseïns und der Wirkung des Labfermentes. 1877.

[4]) *J. Schmidt.* Materialien zur Erklärung der Eigenschaften der Frauen- und Kuhmilch. Inaug.-Dissertation in russischer Sprache. 1880. Moskau. Referat im Centralblatt für Gynäkologie. No. 48.

[5]) Journal für praktische Chemie. [2] Bd. 27. 1883. *Heinrich Struve.* Studien über Milch.

Albumin und Pepton gefunden: dagegen bestritten *Hofmeister*[1]) und *Dogiel*[2]) die Existenz vom Pepton in der Frauenmilch.

Daran schliesst sich auch die Angabe von *Meigs*[3]), dass nur ein Caseïn existirt und dass die Frauen- und Kuhmilch sich nur dadurch von einander unterscheiden, dass sie verschiedene Caseïnmengen enthalten, nämlich die Kuhmilch dreimal so viel als Frauenmilch, welche nur 0,75—1,25 % Caseïn enthalten soll. Diese Werthe scheinen richtig zu sein, obschon sie von *Biedert* stark bestritten worden sind.

Vor elf Jahren hat *Hoppe-Seyler*[4]) eine Methode zur Darstellung des Frauencaseïns angegeben, die auch analytischen Zwecken dienen konnte. Darnach sättigt man Milch mit $MgSO_4$, wäscht 6—8 mal das ausgeschiedene Caseïn mit gesättigter Bittersalzlösung auf dem Filter aus. Der Niederschlag wird in Wasser gelöst, „nochmals durch Sättigung mit $MgSO_4$ gefällt, mit Alkohol und mit Aether gewaschen, bei 40° getrocknet, pulverisirt, mit Aether bis zur völligen Entfernung des Fettes gewaschen, dann das $MgSO^4$ durch Dialyse entfernt, getrocknet.“[5]) Auf diese Weise erhaltenes Frauencaseïn stellt jedenfalls die in der Milch enthaltene Verbindung desselben mit Basen dar.

Ein Verfahren zur Darstellung und Bestimmung des Frauencaseïns, bei welchem dasselbe frei aus seinen Verbindungen ausgeschieden wird, hat zuerst *Pfeiffer* angewendet. Und dann modificirte *J. Schmidt*[6]) die von *Hoppe-Seyler* für die Bestimmung des Caseïngehaltes in der Kuhmilch gebrauchte Methode dadurch, dass er, nach Versetzen der verdünnten Frauenmilch mit 0,4 %iger Essigsäure bis zum Entstehen eines Niederschlages eine halbe Stunde lang und unter Erwärmen auf 40°, CO_2, durchleitete. Nach 20 Stunden filtrirte er und wusch mit Alkohol und Aether aus.

---

[1]) Zeitschrift für physiol. Chemie. II. S. 295.

[2]) *Dogiel.* Einiges über die Eiweisskörper der Frauen- und der Kuhmilch. Zeitschrift für physiol. Chemie. IX. 1885.

[3]) *Meigs.* Proof that human milk contains only about one percent of Caseïn. 1883. Citirt nach *Biedert* (s. a. a. O.).

[4]) *Hoppe-Seyler.* Handbuch der physiolog. und patholog. Analyse. Berlin. 1883.

[5]) Die in den „—“ eingeschlossenen Worte sind aus der letzten Ausgabe (1893) des oben citirten Werkes genommen.

[6]) *Emmerling.* Artikel „Milch“ im *Ladenburg*'schen Wörterbuche.

Pfeiffer giebt in seinem letzten Werkchen[1]) eine für analytische Zwecke berechnete Methode an, die aber wegen der hohen Reactionstemperatur (50—54° R.) ein verändertes Präparat liefern kann. Er betrachtet die Eiweissstoffe von verschiedenen Milcharten als verschieden, glaubt aber bewiesen zu haben, dass in jeder Milch nur ein einziger Eiweissstoff vorhanden sei, den er Caseïn nennt. (S. 26).

Nachdem wir kurz die geschichtliche Entwickelung der Studien über Frauencaseïn, fast bis zur jüngsten Zeit, geschildert haben; können wir die erhaltenen Resultate besprechen und einen Blick auf die gegenwärtige Lage der uns interessirenden Frage werfen.

Für den Chemiker wie für den Arzt ist die Frage nach der Natur des Frauencaseïns aus den oben schon angedeuteten Gründen von grossem Interesse, und ganz besonders die Frage nach der chemischen Identität des Frauen- und Kuhcaseïns. Der Beantwortung derselben stellen sich aber grosse Hindernisse in den Weg, von denen die Beschaffung des nöthigen Materials nicht die kleinste ist. Das menschliche Weib liefert im allgemeinen keine sehr grossen Mengen Milch und jede Mutter bedarf derselben für ihr Kind; nur wenn Milch im Ueberflusse vorhanden oder das Kind gestorben ist, kann man darauf rechnen, etwas grössere Mengen zu erhalten.

Unter den Forschern, die sich mit der Frage befasst haben sehen wir zwei Richtungen vertreten; die einen hielten alle Caseïne für einen und denselben Stoff, der nur unter verschiedenen Verhältnissen verschiedene Eigenschaften zeigt, worauf die Unterschiede der einzelnen Milcharten beruhen.

Diese Ansicht wurde im vorigen Jahrhundert von *Ferris* und einer ganzen Reihe anderer Forscher vertreten. In der neueren Zeit haben sich *Schmidt, Struve, Meigs* und Andere dafür ausgesprochen. Man hat sogar für diese Idee genauere Beweise angeführt: *Dumas* und *Cahours*[2]) haben vergleichende Analysen der Caseïne von verschiedenen Thierarten gemacht und für Frauen-, Kuh-, Ziegen-, Eselinnen- und Schafcaseïn dieselbe Zusammensetzung gefunden. Die Resultate unterscheiden sich voneinander fast gar nicht. Die Unterschiede sind kleiner als diejenigen, welche bei

[1]) *Pfeiffer.* Die Analyse der Milch. 1887. S. 34.

[2]) Chemisches Wörterbuch. *Fehling. König.* Menschliche Nahrungs- und Genussmittel. 1893.

gewöhnlichen Analysen vorkommen, sie überschreiten nicht 0,1%. Ich führe hier die Zahlen für das Frauen- und Kuhcaseïn an.

Elemente	Frauencaseïn	Kuhcaseïn
C	53,47%	53,50%
H	7,13%	7,05%
N	15,83%	15,77%

Das Kuhcaseïn wurde für diese Elementaranalyse durch Essigsäure und das Frauencaseïn durch Alkohol gefällt.

Dumas und *Cahours* schliessen hieraus auf die Identität beider Caseïne, während doch auch Isomerie vorliegen kann.

Den genannten Vertretern dieser Ansicht schliessen sich noch an: *Dogiel* und endlich *Soxhlet*, der sich noch im vorigen Jahre für diese Idee ausgesprochen hat.

Dogiel hat „den Gehalt der Frauenmilch an einzelnen Salzen auf dieselbe Höhe gebracht, wie den der Kuhmilch und dann das Caseïn gefällt." Er beschreibt den Vorgang folgendermaassen: „In allen acht Proben bildeten sich von Essigsäurezusatz grobflockige, schnell zu Boden sinkende, wenn auch nicht ganz so compacte Niederschläge wie in Kuhmilch. Aus diesen Versuchen ist also ersichtlich, dass die Caseïnniederschläge aus Frauenmilch bei einem erhöhten Salzgehalt denen aus Kuhmilch ganz ähnlich werden." Seine Verdauungsversuche sprechen auch für grosse Aehnlichkeit der beiden Caseïne. „Bei der Pepsinverdauung verhielt sich das Caseïn der Frauenmilch ganz ebenso wie das der Kuhmilch; die Lösung des ersten trübt sich bei der Verdauung mit der Dauer des Versuchs immer mehr und mehr und kann endlich schwach gelatinös werden." (S. 609).[1])

Die entgegengesetzte Ansicht, die Kuh- und Frauencaseïn als chemisch verschiedene Stoffe betrachtet, wurde von dem früher erwähnten *Clarke*, ferner *Simon*, *Kehrer*, seinem Schüler *Biedert*, weiter *Makris*, *Pfeiffer* vertreten.

Auch in der neuesten Litteratur begegnen wir diesem Zwiespalt.

[1]) Ztschr. für phys. Chemie. IX. 1885. „Einiges über die Eiweisskörper etc."

So finden wir im *Hoppe-Seyler*'schen „Handbuche der physiologisch-chemischen Analyse“ (1893) die Angabe, dass Frauencaseïn eine andere Zusammensetzung hat und sich dadurch vom Kuhcaseïn unterscheidet, dass es „weniger in Wasser sowie in Alkohol löslich ist als das Kuhcaseïn. Durch Lab gerinnt es nur unvollkommen schleimig.“ *Hoppe-Seyler* betrachtet die Caseïne als den Albuminaten ähnliche Körper, welche „noch auf keine Weise von dem gleichfalls in Kuh- und Ziegenmilch nachgewiesenen Nucleïn abgetrennt werden konnten.“ (S. 259). (S. 456).

Die ältere, früher von *Soxhlet* und *Kühne* vertretene Ansicht, dass Caseïne Albuminate sind, fällt schon wegen der specifischen Wirkung des Labs und Pepsins dahin.

In einem neuen Aufsatze über Frauenmilch giebt *J. Munk* [1]) *Dogiel*'s Ansicht an, ist aber geneigt, die Verschiedenheit des Frauen- und Kuhcaseïns anzunehmen.

Dogiel hat Frauen- und Kuhcaseïn für denselben Stoff gehalten.

Die Identität der beiden Caseïne sollte nach einer im Jahre 1891 erschienenen Arbeit von *Courant*,[2]) durch folgenden Versuch bewiesen werden. „Setzt man zu 5 cc. Frauenmilch 1,5 cc. bis 2,00 cc. $^1/_{100}$ N. Phosphorsäure, so zeigt sich nach Zusatz des Labfermentes ein grobflockiges, massives, contractiles Gerinnsel,“ welches doch nicht ganz ähnlich demjenigen in der Kuhmilch ist. Zum Schluss sagt *Courant:* „der Versuch beweist, dass sich das Casein in der Frauenmilch durchaus ebenso verhält, wie das in der Kuhmilch, und dass die schlechte Gerinnung nur die Folge der grösseren Alkalescenz ist.“

Diese Widersprüche in den Angaben und Verwirrung in der Erklärung der Thatsachen hat denn auch *Hammarsten*[3]) folgende Worte in seinem Lehrbuche auszusprechen veranlasst: „Die Frage, in wie weit die Unterschiede zwischen Kuh- und Frauenmilch von einem bestimmten Unterschiede der zwei Caseïne, oder nur von einer ungleichen Relation zwischen Casein und Salzen in den zwei Milchsorten, bezw. von anderen Umständen herrühren, ist noch nicht genügend untersucht.“ Und an einer anderen Stelle sagt er

[1]) *Eulenburg.* Encyclopaedische Jahrbücher der gesammten Heilkunde. 1893.

[2]) *Courant.* Ueber die Reaction der Kuh- und Frauenmilch. Pflüger's Arch. Band L. 1891.

[3]) *Hammarsten.* Lehrbuch der physiologischen Chemie. 1891. S. 262.

folgendes: „Ob das Caseïn der verschiedenen Milchsorten identisch sei oder ob es mehrere verschiedene Caseïne gebe, ist noch nicht ganz sicher entschieden.“ (S. 255).

Die Frage schien also einer eingehenden Untersuchung werth; um so mehr, als im Jahre 1893 *Soxhlet*[1]) einen Vortrag in München gehalten hat, in welchem er sich für die vollständige Gleichheit des chemischen Wesens der beiden Caseïne ausgesprochen und, auf diese Idee gestützt, die wichtigsten praktischen Folgen in Bezug auf die Kinderernährung gezogen hat.

Unter diesen Umständen habe ich, um einen Beitrag zu der Entscheidung dieser Frage zu liefern, den Vorschlag des Herrn Prof. Dr. *E. Drechsel*, die Eigenschaften des reinen Frauencaseïns näher zu untersuchen, mit grosser Freude angenommen.

Ehe ich zur Schilderung der Resultate der Arbeit selbst übergehe, sei es mir gestattet, auch an dieser Stelle, meinem hochverehrten Lehrer, meinen herzlichsten Dank auszusprechen für seinen höchst freundlichen und vielfachen Beistand, mit dem er mir vor allem bei Ausführung dieser Untersuchung zur Seite gestanden ist.

Darstellung des Frauencaseïns.

Um die Eigenschaften des Frauencaseïns prüfen und sie mit denen des Kuhcaseïns vergleichen zu können, musste man ein reines Präparat haben. Desshalb habe ich zuerst nach einer Methode gesucht, welche gestattet, grössere Mengen eines möglichst reinen und unveränderten Frauencaseïns zu erhalten.

Die älteren Darstellungsweisen konnten kein Frauencaseïn mit den natürlichen, unveränderten Eigenschaften liefern. *Meggenhofen*, *Simon*, *Makris*, *Pfeiffer*, auch *J. Schmidt* brauchten eine höhere Temperatur, die auf die Beschaffenheit ihrer Präparate

[1]) *Soxhlet.* Die chemischen Unterschiede zwischen Kuh- und Frauenmilch und die Mittel zu ihrer Ausgleichung. — Sonderabdr. aus der Münch. Med. Woch. 1893.

nicht ohne Wirkung bleiben konnte. *Biedert* hat mit Alkohol gefällt, welcher die Löslichkeit des Frauencaseïns vermindert und ausserdem ein vom Albumin nicht befreites Caseïn liefert. *Hoppe-Seyler* hat wahrscheinlich eine Verbindung des Frauencaseïns mit Basen bekommen, da er bei seinem Verfahren keine Säuren anwendet.

Ferner waren die Präparate meist nicht vollständig pulverig und weiss, sondern körnig, hornig, dunkel, braun oder gelb gefärbt.

Für die Kuhmilch hat *Hammarsten* schon vor mehreren Jahren ein sehr bequemes und zweckmässiges Verfahren mit Essigsäure angegeben, nach welchem man ein fast aschenfreies, schneeweisses Caseïn erhalten kann. Dieses Verfahren ist aber nicht direct auf die Frauenmilch anwendbar, weil die letztere mit der verdünnten Essigsäure bei gewöhnlicher Temperatur eine unvollständige Fällung gibt.

Da die im Milchserum befindlichen Stoffe möglicherweise das vollständige Ausfallen des Caseïns verhindern konnten, war es zuerst wichtig, das Serum von den Eiweissstoffen möglichst zu trennen. Zu diesem Zwecke habe ich $(NH_4)_2\,SO_4$ gewählt[1]), welches, wie bekannt durch vielfache Erfahrungen, als ein ausgezeichnetes Mittel erprobt ist, um Eiweissstoffe unverändert zu fällen.

Das schwefelsaure Ammon muss selbstverständlich ganz rein sein und man ist oft gezwungen, die käuflichen Präparate noch ein paar mal umzukrystallisiren.

Es fällt, wie bekannt, alle Eiweissstoffe, nur Peptone und ein Theil von Deuteroalbumosen bleiben in der Lösung. Im erhaltenen Niederschlage darf man also Caseïn, Albumin und möglicherweise noch andere Eiweisskörper, mit Ausnahme von Pepton, voraussetzen.

Die zu meinen Versuchen nöthigen Mengen Frauenmilch habe ich zuerst, dank der Freundlichkeit des Herrn Prof. *P. Müller*, aus der hiesigen Entbindungsanstalt erhalten; späterhin grössere Mengen des durch Sättigung von Frauenmilch mit $(NH_4)_2\,SO_4$

[1]) Das schwefelsaure Ammon wurde schon früher zum Fällen des Frauencaseïns von Dr. *Müller* angewendet. Aber sein weiterer Gang der Darstellung war ganz verschieden von der meinigen. — Dr. *W. Müller*. Zur Kenntniss des Verhaltens von Milch und Caseïn zur Salzsäure. 1892. S. 19. — Diese Arbeit wurde im Laboratorium von Professor *E. Drechsel* in Leipzig ausgeführt.

entstandenen Niederschlages durch die gütige Vermittelung des Herrn Prof. *E. Ludwig* in Wien. Es ist mir eine angenehme Pflicht, den genannten beiden Herren auch an dieser Stelle meinen besten Dank auszusprechen.

Um Milch aus der Brust zu gewinnen[1]), versuchte ich zuerst den im Handel vorkommenden gläsernen Saugapparat zu benützen, da er aber zu gross war (ca 150 cc.), was das Erreichen der nöthigen Luftverdünnung durch Saugen sehr erschwert hat, so griff ich bald zu einem, nach *Pfeiffer*[2]) construirten Apparate. Es hat sich aber bald gezeigt, dass das Operiren damit, wie für die Saugenden, so auch für die Wöchnerinnen nicht ohne Last war. Das Saugen hat einen starken Schmerz an der Zunge und an den Lippen hervorgerufen. Die Warze war bald in den Glastrichter eingezogen und Ausscheidung hörte auf, so dass man, das Kind nachahmend, bald aufhören musste und erst nach einigen Minuten wieder ein wenig saugen konnte. Die Wöchnerinnen fühlten Warzenschmerzen. Ausserdem gab diese Operation sehr wenig Milch und desshalb wurde sie ganz verworfen und durch langsames und leichtes Auspressen der Brust mit den vollgespreizten Händen ersetzt. Bei solchem Verfahren gewinnt man grössere Milchquantitäten und die Wöchnerinnen werden dadurch nur wenig ermüdet.

Das erhaltene Material wurde als Mischmilch verarbeitet, obwohl man an den einzelnen kleinen Portionen grosse individuelle Unterschiede beobachten konnte. Die Milch wurde nicht früher als am fünften Tage nach der Geburt entnommen (in der hiesigen Klinik). Das Material wurde sofort verarbeitet und im frischen Zustande mit dem doppelten Volum einer gesättigten Lösung des

[1]) *Lehmann* in seinem „Handbuche der physiologischen Chemie“ (1850) beschreibt einen damals bekannten, complicirten Apparat, der zur Gewinnung der Frauenmilch diente, in folgenden Worten: „Dieser Apparat besteht aus einem künstlich aus Caoutschoue nachgeahmten Munde mit Lippen, Zahnfleisch und elastischen Mundwänden, letztere sind mit dem kurz abgeschnittenen Halse einer kleinen tubulirten Retorte verbunden, in deren Tubulus eine Glasröhre eingefügt ist, an welcher nöthigenfalls von der Stillenden selbst oder mittelst einer kleinen Luftpumpe das Saugen vollführt werden kann.“ — Er erkennt auch, dass „es sehr schwer ist, die Milch von stillenden Frauen in grösserer Menge zu verschaffen.“ II. Band (S. 326).

[2]) *Pfeiffer*. — Analyse der Milch. 1887. (S. 3.)

$(NH_4)_2SO_4$ versetzt. Nach dem Schütteln filtrirt, gab es ein wasserklares, reines Filtrat und der Rückstand schloss in sich die Eiweissstoffe mit dem ganzen mitgerissenen Fette.

Um aber mit kleineren Flüssigkeitsmengen zu thun zu haben, ist es besser, wenn man statt der gesättigten Lösung $(NH_4)_2SO_4$ in Substanz nimmt, sehr fein zerreibt und auf je 100 cc. Milch 60 gr. in kleinen Portionen unter gutem Umrühren zugibt)[1].

Nach einiger Zeit, gewöhnlich schon nach ein paar Stunden, hebt sich der Niederschlag nach oben und unten bleibt eine wasserklare Schicht. Die grösseren Kryställchen vom Salze, die sich nicht aufgelöst haben, sinken zu Boden, und, da es unzweckmässig ist, solche mit dem Niederschlage zu mischen und auf das Filter zu bringen, so empfehlen sich für die Aussalzung des Frauencaseïns schlanke Cylinder als Gefässe. Auf dem Filter wäscht man den Niederschlag zweimal mit 30 %iger Lösung von $(NH_4)_2SO_4$ aus, was sehr langsam von statten geht. Dabei löst sich der Rest vom Zucker, Salzen, sowie auch ein Theil vom Albumin auf.[2])

Die kleinen Portionen des Rückstandes werden in einer Reibschale sorgfältig zerrieben, zuerst für sich, bis keine Klümpchen bleiben, dann mit einigen Tropfen Wasser, bis die Masse gleichmässig geworden, dann muss man wieder etwas Wasser zugeben u. s. w. Die genannten erhaltenen Flüssigkeitsportionen wurden in einer Flasche mit Wasser bis auf $^3/_4$ des ursprünglichen Milchvolums gebracht und gut durchgeschüttelt. Die Flüssigkeit enthält das Frauencaseïn in wässeriger Lösung neben der Fettemulsion.

Das Frauencaseïn ist in dieser Lösung vermuthlich in Verbindung mit Basen (Kalk) enthalten, wenigstens enthält die Asche des durch Ammonsulfat gefällten, ausgewaschenen und dialysirten, aber nicht mit Essigsäure behandelten Caseïns erhebliche Mengen von Kalk.

Um nun die erhaltene Frauencaseïnlösung vom Fett zu befreien, versuchte ich dieselbe zu filtriren. Dieser Weg ist aber

---

[1]) Es reicht oft schon 50 gr. $(NH_4)_2SO_4$, um ein klares Filtrat zu bekommen, da aber ziemlich grosse Schwankungen in den einzelnen Portionen vorkommen können, ist es besser, in der Regel 60 gr. anzuwenden.

[2]) Die ausgesalzenen und filtrirten Eiweissstoffe können in gut verstöpselten Flaschen und bei niederer Temperatur mehrere Monate lang unverändert aufbewahrt werden.

schwer und führt ausserdem nicht zum Ziele: Die Flüssigkeit filtrirt nicht klar und nur sehr langsam, da die Poren bald verstopft werden. Um sie nur schwach opalescirend zu bekommen, muss man sie mehrere Male durch Doppelfilter filtriren, was mehrere Tage in Anspruch nimmt. Da auch das zuletzt erhaltene Filtrat ziemlich stark opalescirend ist, so habe ich dieses Verfahren ganz verlassen, um so mehr, als auch die Anwendung der Saugpumpe nur zu einer schnelleren Verstopfung des Filters, nicht aber zu einer Beschleunigung der Filtration führt. Dagegen hat mir die Anwendung der Centrifuge gute Dienste geleistet und ich habe dieselbe desshalb fernerhin auch stets angewendet.

Nach etwa zweistündigem Centrifugiren sammelte sich in den Cylindern oben eine feste Fettschicht, unten eine nur schwach opalescirende Frauencaseïnlösung. Die Lösung wurde, nach dem Durchstechen der Fettschicht, an zwei Stellen mit einem dünnen Glasstabe in eine Flasche ausgegossen. Manchmal habe ich auch die Flüssigkeit mit einem dünnen Heber abgehoben. Da aber dabei kleine Fettpartikelchen immer mitgerissen wurden, habe ich die Flüssigkeit durch dichte Leinwand filtrirt.

Um die noch vorhandenen geringen Fettmengen fortzuschaffen habe ich sodann zu der Caseïnlösung ein halbes Volum Aether gesetzt, geschüttelt und über Nacht stehen gelassen.

Das Schütteln mit Aether muss sehr vorsichtig ausgeführt werden.[1]) Es ist am besten, die Mischung in einem geräumigen Scheidetrichter ein paar Mal langsam umzuschütteln, dann zu lüften und die gebildete Emulsion abzetzen zu lassen. Nach einigen Minuten, nachdem die beiden Schichten sich vollständig getrennt haben, kann man wieder umschütteln u. s. w.

Beim unvorsichtigen Umschütteln bildet sich eine bleibende gallertartige Aetheremulsion, indem die Aethertröpfchen sich mit einer Schicht der Frauencaseïnlösung umgeben, und diese Emulsion zerfällt weder beim Stehen, noch auf Zusatz kleiner Mengen von Alkohol.

Die geklärte Frauencaseïnlösung, aus dem Scheidetrichter abgelassen, wird filtrirt, was jetzt sehr leicht vor sich geht, und wobei auch ein Theil des Aethers verdunstet.

---

[1]) Der Aether muss alkoholfrei sein; da er aber oft Spuren von Alkohol enthält, soll man ihn in der Regel in einem Scheidetrichter so lange mit Wasser ausschütteln bis dieses keine Alkoholreaction mehr gibt.

Um nun das Caseïn von etwa damit verbundenen Basen zu trennen, habe ich diese Lösung mit verdünnter Essigsäure versetzt, von welcher ich annehmen zu können glaubte, dass sie, wenn in geringem Ueberschusse vorhanden, doch weniger stark auf das gefällte Caseïn einwirken würde als etwa verdünnte Mineralsäuren.

Ich habe Frauencaseïnlösung mit einer $^1/_{10}$ N. Essigsäure tropfenweise versetzt und dabei folgende Erscheinungen beobachtet: Die ersten Tropfen bilden keinen Niederschlag, die Flüssigkeit verändert ihr Aussehen nicht. Bei weiterem Zusatz von Säure entsteht ein wolkiger Niederschlag, welcher sich beim Umschwenken in der ganzen Flüssigkeit gleichmässig vertheilt und derselben ein milchiges Aussehen verleiht; Flöckchen lassen sich zu dieser Zeit noch nicht in der Flüssigkeit erkennen. Solche treten aber auf Zusatz von noch mehr Säure auf; sie schweben aber immer in einer etwas milchigen Flüssigkeit, da die Fällung des Caseïns nie ganz vollständig ist.

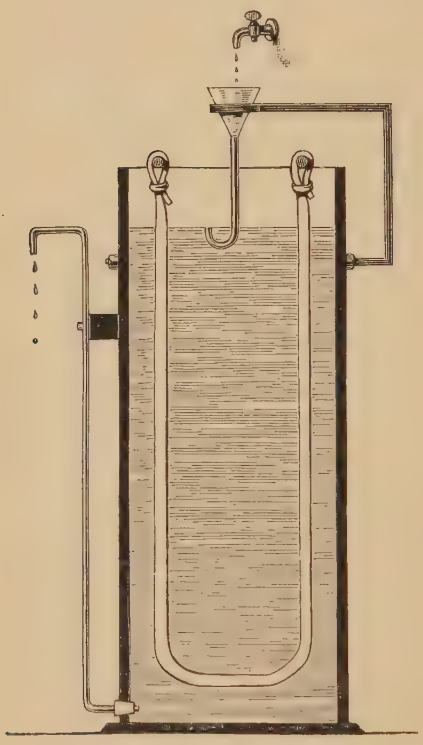
Das Ende der Reaction kann man mit Lackmuspapier nicht erkennen, weil das Frauencaseïn selbst dasselbe röthet. Man filtrirt desshalb einige Tropfen durch ein kleines Filterchen und prüft ob im Filtrate mit Essigsäure noch ein Niederschlag entsteht. Wenn die Flüssigkeit trübe filtrirt, was oft geschieht, dann giebt man einfach eine bestimmte Menge Essigsäure zu der ganzen Masse zu, nämlich ca. 10 cc. von der $^1/_{10}$ N. Essigsäure auf je 100 cc. des ursprünglichen Milchvolums, welche Menge dann erfahrungsgemäss ausreicht, das Frauencaseïn möglichst vollständig auszufällen. Ein Ueberschuss von der Säure ist zu vermeiden, da das Frauencaseïn in der Essigsäure löslich ist.

Der entstandene Niederschlag lässt sich meist nicht sofort filtriren oder centrifugiren, sondern erst nach längerem, 1—2 tägigem ruhigem Stehen. Schneller erreicht man dieses Ziel, wenn man der Flüssigkeit auf je 100 cc. 30 gr. $(NH_4)_2SO_4$ zusetzt; dann wird der Niederschlag schon nach ein paar Stunden filtrirbar. Nach dem Filtriren oder Centrifugiren des Niederschlages habe ich ihn noch so lange mit einer 30 %igen Lösung das $(NH_4)_2SO_4$ gewaschen, bis das Filtrat höchstens noch Spuren von Albumin (durch Aufkochen entstand nur noch eine kaum sichtbare Trübung) enthielt.

Da der Niederschlag im Wasser etwas löslich ist, so kann man dieses nicht zum Auswaschen anwenden; ich habe desshalb zu diesem Zwecke eine 25—30 %ige Lösung von schwefelsaurem

Ammon benützt. Stärker darf man dieselbe nicht nehmen, da sonst dem Caseïn etwas Albumin beigemengt bleiben kann. Dass dieser Körper, entgegen der Ansicht von *Pfeiffer* und Aa. in der Frauenmilch reichlich vorhanden ist, dürfte daraus zur Genüge hervorgehen, dass das erste Filtrat vom Frauencaseïn beim Kochen ganz undurchsichtig milchig wird.

Um das ausgewaschene Frauencaseïn von den Salzen möglichst zu befreien, bringt man es in einen Dialysator. Für die kleineren Quantitäten habe ich *Drechsel*sche Dialysatoren gebraucht, die mit den aufgeschliffenen Platten hermetisch verschlossen sind. Für die grösseren Quantitäten sind die von *Drechsel* modificirten *Kühne*schen Dialysatoren sehr bequem. Die Modification besteht darin, dass der Wasserzufluss von oben und der Abfluss von unten geschieht. Bei dieser Anordnung fliesst immer der salzreichste Theil der Flüssigkeit ab, welcher sich infolge seines höheren spec. Gewichtes stets am Boden des Cylinders ansammelt, und hier die Dialyse stören muss. Wird nun diese concentrirte Salzlösung direct von unten weggenommen, so wird sie fortwährend durch reines, von oben nachsinkendes Wasser ersetzt und die Dialyse geht stets energisch von statten. Zu diesem Zwecke lässt *Drechsel* das Wasser durch einen Trichter zufliessen, dessen Rohr nach oben umgebogen ist, so dass das Wasser sich direct auf der Oberfläche ausbreitet ohne Strömungen zu erzeugen. Unten hat der Cylinder einen Tubulus, in welchen ein rechtwinklig nach oben gehendes Steigrohr mit etwas unterhalb des oberen Randes des Cylinders seitlich abgebogener Ausflussöffnung eingesetzt ist.[1])



[1]) Der beschriebene, für diese Arbeit construirte Dialysator ist von *Desaga* zu beziehen.

Es ist vielleicht nicht überflüssig, hier noch besonders darauf hinzuweisen, dass die Dialyse 8—14 Tage dauert, und dass die übrigen Operationen ebenfalls lange Zeit in Anspruch nehmen. Unter diesen Umständen ist es sehr schwer, Infection der Lösungen zu verhüten, um so schwerer, als diese einen vortrefflichen Nährboden für Mikroben abzugeben scheinen. Nur wenn man alle Gefässe immer gut bedeckt hält, das Thymol nicht spart, so schnell als möglich arbeitet und bei möglichst niedriger Temperatur (die Lösungen z. B. immer im Eisschranke aufbewahrt), nur dann gelingt es, die Operationen ohne Anzeichen einer beginnenden Fäulniss vollständig zu Ende zu führen.

Ausser der gewöhnlichen Fäulniss kommt auch manches Mal eine Zersetzungsart vor, die durch eine Rosafärbung der Lösungen und des erhaltenen Präparates sich auszeichnet.[1])

---

[1]) Es hat schon Dr. *Müller* bei der Darstellung des Frauencaseïns eine Rosafärbung seines Präparates beobachtet (l. c. S. 19). Bei mir kam diese Färbung auch einige Male zum Vorschein. Solche Präparate mit der Rosafärbung sind etwas schwerlöslicher. Diese Färbung kann schon in der Milch selbst und in der Frauencaseïnlösung, welche wir nach dem Abcentrifugiren des Fettes erhalten, hervortreten. Sie verstärkt sich dann durch die ganze Darstellungszeit, trotz aller gegen Infection angewendeten Maassregeln. Der Farbstoff bleibt grösstentheils in den Mutterlaugen der Essigsäurefällung, welche desswegen auch rosaroth aussehen, in das Frauencaseïn geht er nur in Spuren über.

Vermuthlich hängt seine Bildung von Mikroben ab, und ich bemerke desshalb hier ausdrücklich, dass ich zu den weiter unten beschriebenen Versuchen und Analysen nur rein weisse oder höchstens kaum erkennbar röthlich gefärbte Präparate benützt habe.

Ich habe eine solche (schwach opalescirende) Mutterlauge durch längeres Stehenlassen ziemlich stark gefärbt bekommen. Es gelang mir durch mehrmalige Filtration und ruhiges Stehenlassen, die Flüssigkeit ganz klar zu bekommen. Jetzt suchte ich mich zu überzeugen, ob der Stoff den Blutfarbstoffen verwandt ist. Zu diesem Zwecke habe ich ein 200 mm. langes Polarisationsrohr mit der Flüssigkeit gefüllt und diese dann mit einem Spectroskop untersucht. Deutliche Absorptionsstreifen konnten jedoch nicht beobachtet werden. Darnach ist es nicht wahrscheinlich, dass der in Rede stehende Farbstoff mit dem Haemoglobin des Blutes in näherem Zusammenhange steht.

Um den Farbstoff aus der Flüssigkeit abscheiden zu können, wollte ich die gefärbte Flüssigkeit zunächst möglichst von den Eiweissstoffen reinigen. Bei einer, mit Bleiacetat zu diesem Zwecke ausgeführten Probe entstand ein grauweisser voluminöser Niederschlag, während die Farbe

Wenn das bei der Dialyse abfliessende Wasser keine Schwefelsäurereaction mehr giebt und der Schlauchinhalt nur eine geringe Trübung nach längerem Stehen mit $BaCl_2$ zeigt, dann kann man die Dialyse unterbrechen.

Der Schlauchinhalt, in ein geräumiges Becherglas entleert, wird gut umgerührt und tropfenweise mit einer $^1/_{100}$ N. Natronlauge aus der Bürette versetzt.[1]) Meistentheils ist das Zerreiben des Niederschlages unnöthig, weil derselbe, der Dialyse wegen, gewöhnlich schwammig und locker wird. Nachdem sich alles bei Umrühren in Na HO gelöst hat, wobei man sorgfältig einen Ueberschuss vermeiden und Natronlauge nur bis zur neutralen Reaction zugeben darf, stellt die Lösung eine gelblich-opalescirende Flüssigkeit dar. Das Verdünnen mit Wasser vor dem Alkalizusatz ist nicht nöthig, da durch den Vorgang der Dialyse selbst, das Verdünnen zu Stande gebracht wurde. Wenn eine vorhandene Opalescenz die Anwesenheit des Fettes verräth, muss man die oben beschriebene Ausschüttelung mit Aether noch einmal wiederholen und dann filtriren.

Die erhaltene Flüssigkeit wird mit Essigsäure versetzt. Man lässt $^1/_{10}$ N. Essigsäure tropfenweise, unter Umrühren aus einer Bürette in der Menge zufliessen, welche genau die zugesetzte Natronlauge neutralisiren kann und ausserdem zwei oder drei Cubikcentimeter Ueberschuss auf je 100 cc. der ursprünglichen Milch gerechnet.

---

der Flüssigkeit verschwand. Der Niederschlag, filtrirt, färbt sich nach längerer Zeit an der Luft blau. Bei Wiederholung des Versuches erhielt ich dasselbe Resultat. Der Niederschlag enthielt ausser dem gefällten Farbstoffe noch $PbSO_4$ und Verbindungen des Pb mit Eiweissstoffen; durch Behandlung des Niederschlages mit verdünnter Schwefelsäure konnte der Farbstoff nicht in Lösung gebracht werden.

Eine kleine Menge eines schwefelsäurefreien Filtrates vom Frauencaseïnniederschlage, die lange Zeit unberührt gestanden hatte und stark roth war, gab, mit ein paar Tropfen Bleiacetat versetzt, keinen Niederschlag, sondern änderte nur ihre Färbung in blauviolett um. Die Prüfung des Bleiacetats auf Kupfer ergab ein negatives Resultat; von letzterem Metalle konnte also die Färbung nicht herrühren.

Diese wenigen Beobachtungen über „eine rothe Krankheit des Frauencaseïns“ habe ich desswegen hier angeführt, weil mir dieselben für spätere Untersuchungen nicht ohne Bedeutung zu sein scheinen.

[1]) Um jede Spur von Verunreinigung durch die Natronlauge zu vermeiden, habe ich das aus dem Metall dargestellte Na HO gebraucht.

Der Niederschlag, welcher jetzt flockige Beschaffenheit zeigt und leichter zu Boden sinkt, als bei der ersten Essigsäurefällung wurde nicht filtrirt, sondern centrifugirt, um das Hineingelangen von Filterfasern zu vermeiden.

Die, nach zweistündigem Centrifugiren abgegossene Flüssigkeit war meistens schwach opalescirend, was aber nicht vom Fett, sondern von kleinen Mengen des gequollenen Eiweisses abhängig war. Vielleicht trägt auch die Gegenwart eines eigenthümlichen Eiweisskörpers, auf den ich später noch zurückkommen werde, die Schuld daran. — Die genannte Flüssigkeit gab nur eine Spur einer Reaction auf Albumin, oft sogar gar keine, und das Gleiche gilt für Schwefelsäure.

Der abcentrifugirte Niederschlag wird mit absolutem Alkohol verrieben, wieder centrifugirt, und diese Operation drei mal wiederholt. Jedesmal wurde ungefähr das zehnfache Volum Alkohol in Bezug auf den Niederschlag gebraucht. In der ersten Alkoholportion löst sich ein kleiner Theil des Niederschlages. Es wurde stets der absolute Alkohol angewendet, um diesen Verlust so klein als möglich zu machen. Im verdünnten Alkohol ist das Frauencaseïn, meiner Beobachtung nach, etwas löslich. Bei jedem Auswaschen soll man den Niederschlag mit einem Glasstabe gut durchrühren, dann den Alkohol in kleinen Portionen zugeben und jedesmal die ganze Masse in einen homogenen Zustand, durch Umrühren, bringen. Wenn man auf diese Weise verfährt, kann das Auswaschen einen wirklichen Nutzen bringen; das Begiessen und kurzes Umrühren hingegen beruhigt nur das Gewissen, ohne viel zu helfen, da das Gemenge dabei klumpig wird.

Es sei hier auch bemerkt, dass das Zusammenbringen des Frauencaseïns mit dem Alkohol für das erste gefährlich ist, weil es dabei an seiner Löslichkeit einbüssen kann. Das rasche Operiren ist in diesem Falle leicht möglich, da das jedesmalige Centrifugiren nur 20 Minuten bis $^1/_2$ Stunde Zeit bei mir brauchte.

Nachdem das Frauencaseïn auf diese Weise von jeder Spur Wasser befreit ist, wird es auf dieselbe Weise noch drei Mal mit Aether gewaschen, wie mit Alkohol. Der Aether soll den Alkohol vollständig verdrängen. Es ist sehr wichtig, dass aller Alkohol ausgewaschen wird, weil sonst die dem Präparat anhaftenden Spuren, bei längerem Aufbewahren, einen modificirenden Einfluss auf das Präparat ausüben können. Das Centrifugiren mit Aether

geht sehr rasch, jedes Mal dauerte es bei mir $^1/_4$ Stunde bis 20 Minuten.

Nachdem man die letzte Aetherportion abgegossen hat, bringt man die feuchten Niederschläge mit einem kleinen Horn- oder Glasspatel aus den Cylindern in eine geräumige Porzellanschale, zertheilt möglichst mit demselben Spatel; dann ventilirt man den Niederschlag durch das vorsichtige Hin- und Herbewegen eines Papierbogens über der Schale; von der auf diese Weise entstandenen Luftbewegung trocknet die Substanz sehr rasch. Nachdem das aetherfeucht schwachgrauliche Frauencaseïn rein weiss geworden ist, zerquetscht man es mit dem Spatel vollständig, ventilirt wieder, zerreibt dann mit einem Pistill und bringt es in's Vacuum über Schwefelsäure.

Die Substanz zieht sehr begierig Wasser aus der Luft an, besonders wenn sie nicht ganz getrocknet ist und wird dann hornig, grau oder gelblich. Desshalb muss man das Trocknen sehr rasch ausführen. Das sofortige Zerreiben in einer Reibschale halte ich nicht nur für unzweckmässig, sondern auch für schädlich; weil das aetherhaltige Frauencaseïn dabei schmierig wird, und dann schwerer trocknet und eine hornige Beschaffenheit annimmt.

Nachdem das Frauencaseïn im Vacuum zwei bis drei Stunden geblieben, wird es nochmals ganz fein zerrieben und dann wieder auf mindestens 24 Stunden in's Vacuum gebracht. Schliesslich wird dasselbe in völlig trockenen und gut verschlossenen Gefässen aufbewahrt.

Das gewonnene Frauencaseïn stellt ein lockeres, schneeweisses, voluminöses Pulver dar; da der Alkohol aus demselben nur sehr schwer bis auf die letzten Spuren entweicht, so zeigen die Präparate nach längerem Aufbewahren in einem geschlossenen Gefässe bisweilen noch einen ganz schwachen Geruch nach Alkohol.

Jetzt finde ich es nicht ohne Werth, alles Besprochene kurz zusammenfassend, eine Vorschrift zur Darstellung des Frauencaseïns anzugeben.

Es ist vor Allem zu bemerken, dass man ziemlich grosse Quantitäten Milch dazu braucht, da dieselbe, den neuen Analysen, sowie auch meinen eigenen Beobachtungen nach, nur sehr wenig Frauencaseïn enthält. *König* gibt als Mittel aus 200 Analysen 1% an, das Minimum soll 0,18 % betragen, das Maximum 1,9 %.[1]) Auch erleidet man bei der Darstellung ziemliche Verluste.

[1]) *König.* — Die menschlichen Nahrungs- und Genussmittel. 1893.

Der Einfachheit wegen werde ich alles auf ein Liter Milch berechnen und direct die entsprechenden Zahlen angeben.

Ein Liter frischer Frauenmilch wird mit 600 Gramm gepulvertem $(NH_4)_2 SO_4$ in Substanz versetzt, nach erfolgter Lösung des Salzes filtrirt, der Niederschlag zweimal mit 30%iger Lösung von $(NH_4)_2 SO_4$ ausgewaschen, sorgfältig portionsweise mit kleinern Wassermengen zerrieben, bis auf $^3/_4$ Liter mit Wasser verdünnt und centrifugirt. Dann wird die stark opalescirende Flüssigkeit durch dichte Leinwand in einen zweiliterigen Scheidetrichter filtrirt, mit circa 400 cc. alkoholfreiem Aether langsam ein paar Mal umgeschüttelt, stehen gelassen, bis die Emulsion abgesetzt ist, wieder ein paar Mal umgeschwenkt u. s. w. acht bis zehnmal. Nach dem ruhigen Stehen über Nacht wird die Frauencaseïnlösung abgelassen, filtrirt und tropfenweise mit ca 100 cc. einer $^1/_{10}$ N. Essigsäure aus der Bürette unter gutem Umrühren versetzt. Es ist nothwendig, wenn nur möglich, eine Probe zu machen, ob genügend Essigsäure zugegeben ist. Hierauf setzt man ca. 750 cc. einer gesättigten Lösung von $(NH_4)_2 SO_4$ zu, schüttelt um, filtrirt, wäscht solange mit einer 30%igen Lösung von $(NH_4)_2 SO_4$ aus, bis das Filtrat keine Albuminreaction mehr gibt und bringt den ausgewaschenen Niederschlag in den Dialysator. Wenn die Flüssigkeit im Schlauche nur noch geringe Spuren von Schwefelsäure zeigt, nimmt man die Masse aus dem Dialysator heraus, mischt in einem geräumigen Becherglase gut durch, setzt dazu tropfenweise, unter Umrühren, aus der Bürette, eine $^1/_{100}$ N. Natronlauge, bis alles gelöst ist und beachtet nur, dass die Reaction nicht alkalisch werden soll. Dann gibt man tropfenweise, unter Umschwenken, aus der Bürette eine, der zugegebenen Natronlauge entsprechende Menge $^1/_{10}$ N. Essigsäure zu, und ausserdem einen kleinen Ueberschuss, ca. 12—14 cc., filtrirt, wäscht den Niederschlag, wie oben ausführlich beschrieben, drei mal mit absolutem Alkohol und drei Mal mit alkoholfreiem Aether aus und trocknet das Frauencaseïn zuerst durch Ventilation, dann im Vacuum über concentrirter Schwefelsäure vollständig aus.

Bei dem beschriebenen Verfahren stellt sich die lange andauernde Dialyse insofern als Uebelstand dar, weil während derselben leicht eine Infection durch Mikroben stattfinden kann. Uebrigens ist es mir nicht gelungen, das Caseïn aschenfrei zu erhalten.

Das rationellste Verfahren in Bezug auf Kuhcaseïn ist das *Hammarsten*'sche, welches ich auch auf das Frauencaseïn anzuwenden versuchte. Es ist zwar möglich, den zuerst durch Essigsäure erhaltenen Niederschlag nach längerem Absetzen zu filtriren, obschon es lange dauert und dann kann man ihn auf dem Filter mit Wasser auswaschen. Aber in der milchigen Mutterlauge befindet sich immer eine Substanz, die oft das Filtriren unmöglich macht. Auch durch starkes Schütteln der alkalischen Caseïnlösung mit Filtrirpapierbrei gelingt es nicht, die Flüssigkeit klar zu bekommen. Wegen der langsamen Filtration kann das Auswaschen nicht mehr als einmal ausgeführt werden. Nachdem man den Niederschlag wieder in der Natronlauge gelöst und filtrirt hat, was sehr langsam geht, — schlägt man ihn mit Essigsäure nieder, hier aber wiederholen sich dieselben Schwierigkeiten.

Dieses Verfahren scheint mir daher keine Vorzüge vor dem oben beschriebenen zu besitzen.

Zusammensetzung und Eigenschaften des Frauencaseïns.

Nach der beschriebenen Methode habe ich im Ganzen sechs Mal Frauenmilch verarbeitet und dabei fünf von den erhaltenen Caseïnpräparaten vollständig analysirt.[1]) Ich hielt dies für um so nothwendiger, als die bisher in zwei Arbeiten veröffentlichten Analysen einestheils nicht vollständig sind, anderntheils auch ziemlich stark von einander abweichen.

Die Analysen von *Dumas* und *Cahours*, wie auch diejenigen von *Makris* berücksichtigen den Phosphor- und Schwefelgehalt des Frauencaseïns nicht. Das Präparat von *Dumas* und *Cahours* war mittelst Alkohol gefällt und dasjenige von *Makris* durch Fällung mit $MgSO_4$ und Auswaschen mit heissem Alkohol und Wasser. Ersteres war vermuthlich weniger rein als letzteres und meine

[1]) Das Präparat No. VI wurde, der kleinen Menge wegen, zu den anderen Versuchen aufbewahrt.

Präparate; auf das Caseïn von *Makris* konnte das Auswaschen mit heissem Alkohol und heissem Wasser verändernd eingewirkt haben.

Wie *Dumas* und *Cahours*, so hat auch *Makris* Analysen des Kuhcaseïns gemacht, welche mit denen von *Hammarsten* nicht übereinstimmen. Auch die beiden Frauencaseïnanalysen stimmen miteinander nicht überein, was folgende Vergleichstabelle beweist:

Bezeichnung der Elemente	Frauencaseïn		Kuhcaseïn		
	nach Makris	nach Dumas und Cahours	nach Makris	nach Dumas und Cahours	nach Hammarsten
C	52,353 %	53,47 %	53,622 %	53,50 %	53,00 %
H	7,266 %	7,13 %	7,422 %	7,05 %	7,00 %
N	14,650 %	15,83 %	14,200 %	15,77 %	15,70 %

Ueber meine Analysen ist zunächst folgendes zu bemerken: Die Verbrennungen wurden mit Kupferoxyd und Bleichromat ausgeführt und der Stickstoff in drei Präparaten nach *Kjeldahl* bestimmt, ohne Zusatz von Quecksilber. Für die zwei ersten Präparate wurde die *Dumas*'sche Methode gebraucht.

Folgende Tabelle enthält die gefundenen Werthe:[1])

No. des Präparates	C	H	N	P	S	O
I. schwach röthlich weiss	52,52 %	7,46 %	14,69 %	0,73 %	1,08 %	
II. kaum graulich weiss	51,98 %	7,30 %	14,88 %	0,80 %	1,20 %	
III. schneeweiss	52,62 % 52,33 %	7,28 % 7,27 %	15,50 % 15,12 %	0,645 % 0,68 %	0,95 % 1,00 %	
IV. kaum bemerkbar röthlich	52,56 % 52,29 %	7,41 % 7,32 %	14,84 % 14,75 %	0,63 % 0,65 %	0,86 % 0,904 %	
V. schneeweiss	51,72 % 51,93 %	7,13 % 7,25 %	15,06 % 14,93 %	0,631 % 0,667 %	1,53 % 1,41 %	
im Mittel	52,24 %	7,325 %	14,97 %	0,679 %	1,117 %	23,66 %

Alle Zahlen sind auf aschenfreie Substanz berechnet.

[1]) Die Zahlenbelege s. im Anhange.

Die oben angeführten Resultate stimmen untereinander nicht ganz vollständig überein, doch halten sich die Differenzen in denselben Grenzen, welche auch von anderen Beobachtern bei ihren Analysen der Eiweissstoffe gefunden worden sind.

Dagegen zeigen die verschiedenen Analysen eines und desselben Präparates unter sich eine genügende Uebereinstimmung.

Es ist interessant und für den Werth meiner mittleren Zahlen sprechend, dass die Zusammensetzung des Präparates No. V. welches ohne Dialyse (s. S. 30) dargestellt wurde, mit den anderen stimmt.

Das Hauptresultat, welches die Elementaranalysen ergeben haben, ist der Beweis, dass ein Unterschied in der Zusammensetzung zwischen Frauen- und Kuhcaseïn besteht, dass die beiden verschiedene Körper sind.

Der Leser wird dies am besten aus folgender Zusammenstellung erkennen:

	C	H	N	P	S	O
Frauencaseïn nach Makris	52,353 %	7,266 %	14,650 %			
Frauencaseïn nach mir	52,24 %	7,32 %	14,97 %	0,68 %	1,117 %	23,66 %
Kuhcaseïn nach Hammarsten	53,00 %	7,00 %	15,70 %	0,85 %	0,80 %	22,65 %

Aus dieser Tabelle ersehen wir zunächst, dass meine Werthe für C, H und N fast vollständig mit den von *Makris* gefundenen übereinstimmen.

Ferner ersehen wir aus dem Vergleiche, dass das Frauencaseïn weniger Kohlenstoff, mehr Wasserstoff, weniger Stickstoff, weniger Phosphor und mehr Schwefel als das Kuhcaseïn enthält. Der Unterschied im Wasserstoff ist nicht gross, beim Kohlenstoff aber bedeutend. Ebenso steht es mit dem Stickstoff. Der beträchtliche Unterschied im Schwefelgehalte kann jedenfalls von den gewöhnlichen Fehlern bei Schwefelbestimmungen nicht herrühren. Die Schmelze des Frauencaseïns mit Soda und Salpeter wurde stets über der Alkoholflamme ausgeführt, also konnte keine Spur Schwefel aus dem Leuchtgase in die Schmelze gelangen. Ferner

habe ich den geglühten schwefelsauren Baryt stets noch nach *Fresenius* mit Salzsäure gereinigt, wobei noch ein paar Mal kleine Mengen Baryt ausgezogen werden konnten. Die gefundenen Werthe für Schwefel können desshalb nicht zu hoch sein.

Der Schwefelgehalt ist um ca. 39 % grösser als der des Kuhcaseïns.

Dagegen beträgt der Phosphorgehalt des Frauencaseïns nur ca. 79 % desjenigen des Kuhcaseïns; vielleicht steht damit im Zusammenhange, dass das Frauencaseïn bei der peptischen Verdauung keine Paranucleïnsäure fallen lässt.

Die analysirten Präparate waren, wie schon oben bemerkt wurde, nicht aschenfrei.

Es wurden folgende mittlere Aschenmengen gefunden:

im Präparate	No.	I	— 2,54 %	Asche
„ „	„	II	— 2,82 „	„
„ „	„	III	— 1,03 „	„
„ „	„	IV	— 1,36 „	„
„ „	„	V	— 2,21 „	„
„ „	„	VI	— 1,14 „	„

Die Aschenmenge wurde durch das Wägen des Schiffchens nach jeder Verbrennung bestimmt. Ich habe ausserdem specielle Aschenbestimmungen ausgeführt (siehe Belege).

Die Präparate No. I und II enthalten etwas mehr Asche desshalb, weil sie die ersten waren und im Anfang die Darstellungsmethode noch nicht ganz ausgearbeitet worden war. Frauencaseïn No. V wurde nach der oben beschriebenen Methode ohne Dialyse dargestellt. Es enthielt eine kalkreiche Asche, die vollkommen weiss war.

Kleineren Aschengehalt im Frauencaseïn als 1 % konnte ich nicht erreichen, vielleicht weil die Aschenbestandtheile mit dem Caseïn chemisch verbunden sind und durch die Essigsäure aus dieser Verbindung nicht vollständig abgetrennt werden können.

Ich habe einige Proben angestellt, um diese letzten Aschenmengen wegzuschaffen. So habe ich zu einer Alkalilösung des Frauencaseïns Essigsäure im Ueberschusse (so dass das Caseïn darin gelöst blieb) und Ammoniumoxalat zugegeben, erhielt aber keinen Niederschlag. Wurde zu diesem Versuche ein noch unreines

Caseïn benützt, so entstand ein Niederschlag von Calciumoxalat. Demnach scheint das Caseïn die Kalkfällung auf irgend eine Weise zu beeinträchtigen. Ich habe ausserdem 1 gr. Frauencaseïn No. VI in Natronlauge gelöst und mit Essigsäure gefällt, den Niederschlag mit Alkohol und Aether gewaschen und getrocknet. Es wurde dabei nur eine ganz kleine Aschenabnahme, von 1,35 % bis 1,14 %, erhalten, so dass dieses Verfahren zur Befreiung von der Asche nicht gebraucht werden kann, schon wegen seiner Langwierigkeit und der damit verbundenen Verluste.

In der Asche wurden stets Kalk, Phosphorsäure und einmal Spuren von Magnesia gefunden. Das Eisen gab oft durch eine gelbe oder röthliche Farbe der Asche von seiner Anwesenheit Kunde.

Jetzt können wir zur kurzen Uebersicht der Löslichkeitsverhältnisse des Frauencaseïns übergehen.

Das Frauencaseïn ist vollständig mit nur ganz schwacher Opalescenz in Natronlauge löslich. Es löst sich in verdünnter Salzsäure schwer, noch viel schwerer als das Kuhcaseïn. Um es darin zu lösen, muss man das feinzerriebene Frauencaseïn mit etwas Wasser anrühren und über Nacht quellen lassen, dann mit sehr verdünnter Salzsäure, etwa von 0,3 %, tropfenweise unter stetem Umrühren versetzen. Beim Lösen muss man oft mit Congopapier die Reaction prüfen, um nie eine ganz schwach saure zu überschreiten, sonst bedingt die überschüssige Salzsäure das starke Aufquellen der äusseren Theile der Frauencaseïnpartikelchen und diese lösen sich dann gar nicht mehr. Wenn nur die äusseren Fasern des Congopapiers sich dunkler färben, muss man mit dem Zusetzen der Salzsäure aufhören, das Gefäss umschütteln und bis zum vollständigen Verschwinden der Reaction stehen lassen. Wenn ein Salzgehalt in der Lösung nicht störend wirkt, kann man die Operation rascher auf die Weise beendigen, dass man zuerst das Frauencaseïn in Natronlauge löst, dann es mit Salzsäure fällt und im Ueberschusse derselben wieder löst, was dann leichter und schneller erfolgt. Diese Thatsache zeigt, dass das Präparat, wahrscheinlich wegen der Alkoholwirkung und des Trocknens, an seiner Löslichkeit eingebüsst hat; aber nach dem Ausscheiden aus der alkalischen Lösung erlangt es seine Löslichkeit wieder.

Die Alkali- und Säurequantitäten, die für Lösung des Frauencaseïns gebraucht werden, sind nicht dieselben, wie für das Kuhcaseïn. Hier will ich einen vergleichenden Versuch anführen.

Es wurde 1 gr. Kuhcaseïn und 1,0198 gr. Frauencaseïn genommen.[1]) Das Kuhcaseïn hat 99 cc. der $^1/_{100}$ N. Natronlauge gebraucht, um sich vollständig zu lösen, und das Frauencaseïn nur 93 cc. Dann wurden die berechneten Mengen Verdauungssalzsäure zugegeben, um das Natron zu binden und die Eiweissstoffe auszuscheiden. Es wurden 7,0 cc. und 6,6 cc. Salzsäure zugesetzt.[2]) Die extra gemachten kleinen Proben zeigten, dass der Punkt genau getroffen war. Die Niederschläge in den beiden Gefässen hatten ganz verschiedenes Aussehen. Die Flocken des Kuhcaseïns waren gross und schwer, setzten sich rasch auf dem Boden des Gefässes zusammen, beim Umschütteln ballten sie sich in Klumpen, die Reiskorngrösse erreichten, zusammen. Das Frauencaseïn schied sich dagegen in Form von äusserst feinen, leichten Flöckchen aus, die nur langsam niedersanken.

Um sich vollständig wiederzulösen, erforderte das Kuhcaseïn 8,0 cc. Salzsäure, das Frauencaseïn dagegen 8,75 cc., wobei noch eine starke Opalescenz bestehen blieb, die erst nach 24-stündigem Stehen im Brütofen fast vollständig verschwunden war.

Das Frauencaseïn wird aus seiner Alkalilösung durch Essigsäure, Salzsäure, Milchsäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure niedergeschlagen und löst sich im Ueberschusse derselben vollständig; wird aber aus der Lösung in verdünnter Salzsäure durch Zusatz von concentrirter Salzsäure in Form von grossen faserigen, scharf begrenzten Gerinnseln ausgeschieden. In überschüssiger Essigsäure löst es sich viel leichter als Kuhcaseïn und es wird dazu ein viel kleinerer Ueberschuss nothwendig.

Das Frauencaseïn löst sich in Ammoniak, Alkalien, Kalkwasser, Carbonaten, Phosphaten und Acetaten der Alkalien, und fällt aus diesen Lösungen durch Zusatz der Säuren aus.

In Wasser quillt dasselbe stark auf, aus dem Filtrate scheidet Kochsalz einen flockigen Niederschlag aus; es ist demnach in Wasser

[1]) Von *Trommsdorff* nach *Hammarsten* dargestelltes Kuhcaseïn enthält 0,23 % Asche. Zur Ausgleichung der Unterschiede habe ich 1,0198 gr. vom Frauencaseïn No. V genommen. Nach anderer Ausrechnung soll man 1,023 gr. nehmen, die Unterschiede aber zwischen diesen beiden Zahlen scheinen mir zu klein zu sein, dass man sie in Betracht nehmen sollte.

[2]) Die Verdauungssalzsäure wurde aus 10 cc. der gewöhnlichen concentrirten Salzsäure, die auf Liter mit Wasser verdünnt wurden, dargestellt. Diese Säure habe ich genau mit meiner $^1/_{100}$ N. Natronlauge titrirt.

leichter löslich als das Kuhcaseïn. Auch in verdünntem Alkohol ist es nicht ganz unlöslich. Wenn man zum im Wasser aufgequollenen Frauencaseïn 9 Volumen von absolutem Alkohol zusetzt, innig mischt und filtrirt, dann kann man durch Zusatz von absolutem Alkohol zum Filtrate einen Niederschlag erzeugen. Die Fähigkeit, leicht in einen stark gequollenen Zustand überzugehen, bildet auch eine Eigenthümlichkeit des Frauencaseïns.

Verdauungsversuche.

Durch verschiedene Beobachter ist festgestellt worden, dass, wenn man eine klare salzsaure Lösung von Kuhcaseïn mit Pepsin versetzt und dieselbe dann bei Körpertemperatur stehen lässt, dann nach einiger Zeit die Flüssigkeit eine gallertige Beschaffenheit annimmt und später einen flockigen, phosphorreichen Niederschlag absetzt, den man zuerst als Nucleïn, jetzt aber als Paranucleïn oder Paranucleïnsäure bezeichnet. Mit Frauencaseïn scheinen bisher nur sehr wenig Versuche in dieser Richtung gemacht worden zu sein; bei *Dogiel*[1]) findet sich indessen die Angabe, dass das Frauencaseïn sich gegen Pepsin wie das Kuhcaseïn verhalte, dass seine mit Pepsin versetzte salzsaure Lösung allmälig eine gelatinöse Beschaffenheit infolge der Entstehung eines Niederschlages annehme, der sich als in Natronlauge leicht löslich erwies.

Es schien mir nicht ohne Interesse, das Verhalten meines Präparates ebenfalls in dieser Hinsicht zu untersuchen und mit dem des Kuhcaseïns direct zu vergleichen. Zu diesem Zwecke verfuhr ich folgendermaassen:

2 gr. Kuhcaseïn und 2 gr. Frauencaseïn, zu welchem noch ein auf die Asche berechneter Ueberschuss[2]) zugegeben wurde, habe ich in zwei geräumigen Kolben in der gerade nöthigen Menge $^1/_{100}$ N. Natronlauge gelöst, dann mit einer Verdauungssalzsäure (10 cc. conc. Salzsäure auf 1 L.) verdünnt, gefällt und den Niederschlag in der gerade nöthigen Menge von derselben gelöst.

[1]) Loc. cit.

[2]) Es wurde 2,0396 gr. Frauencaseïn N. V. genommen.

Hierauf wurden noch 3 cc. conc. Salzsäure mit ca. 30 cc. Wasser verdünnt hinzugefügt und das Ganze auf 300 cc. aufgefüllt. Zu den beiden nur schwach opalescirenden Lösungen wurde je 1 cc. von einer 10 %igen filtrirten Lösung *Witte*'schen Pepsins zugegeben. Die beiden Kolben wurden in einem Brütofen bei Körpertemperatur gehalten. Nach dem Verlaufe von einigen Stunden zeigte sich in der Kuhcaseïnlösung ein voluminöser, flockiger, weisser Niederschlag. In der Frauencaseïnlösung dagegen, welche ganz durchsichtig geblieben war, konnte man nur eine Spur eines äusserst feinen, spärlichen Niederschlags beobachten, der in der Flüssigkeit schweben blieb und erst bei Umschwenken durch ein schwaches Schimmern sich bemerklich machte. Nach 24 Stunden bildete der Niederschlag beim Kuhcaseïn einen voluminösen Bodensatz, beim Frauencaseïn dagegen war nichts derartiges wahrzunehmen. Nach dem Verlaufe von einigen Tagen hatte sich das Verhalten nur in sofern verändert, als die Spur des feinen Niederschlags im Frauencaseïn sich vollständig als ein kaum bemerkbarer Hauch auf dem Boden abgesetzt hatte und die Lösung ganz klar geworden war.

Dieser Befund war überraschend und den Angaben *Dogiel*'s widersprechend.

Zu grösserer Sicherheit setzte ich zu einer Hälfte obiger Frauencaseïnlösung noch 2 cc. Pepsinlösung hinzu und digerirte weiter bei Körpertemperatur, allein auch jetzt konnte das Entstehen eines Niederschlages nicht beobachtet werden.

Als ich diese Thatsache bereits durch einige vorläufige Versuche festgestellt hatte, ersah ich aus dem *Maly*'schen Jahresberichte für 1892 (S. 168), dass *F. v. Szontagh* im *Liebermann*schen Laboratorium zu Pest zu ganz ähnlichen Resultaten gekommen ist. Er konnte weder bei der peptischen Verdauung der Frauenmilch, noch bei der des durch Alkohol daraus gefällten Caseïns einen Niederschlag erhalten. Dieses „stellte jedoch am Filter getrocknet eine gelbe, gummiartige, homogene, compacte, stark klebende Masse dar, welche getrocknet leicht zerreibbar ist", war daher jedenfalls nicht so rein, wie das von mir verwendete Präparat und ausserdem „war die Digestion nach 4 Stunden beendet", welche Zeitdauer aber nicht in allen Fällen (s. u.) ausreichend ist. Leider hat *Liebermann* in dem citirten Referate nicht angegeben, welche „Eiweissreaction" in der Verdauungsflüssigkeit nach 4 Stunden negativ

ausfiel und dadurch die Ueberführung der „sämmtlichen Eiweisssubstanz in Pepton“ bewies.[1])

Diese Thatsache, dass aus Frauencaseïn kein Nucleïn bei der Verdauung hervorgeht, bildet einen hervorragenden wesentlichen chemischen Unterschied desselben vom Kuhcaseïn. Die Vermuthung lag nahe, es möchte im Frauencaseïn eine andere Atomgruppe das Nucleïn des Kuhcaseïns ersetzen und ich habe desshalb einige Versuche angestellt, um zu erfahren, ob vielleicht eine Kohlehydratgruppe anwesend sei. Es zeigte sich indessen, dass dies nicht der Fall sei, denn es gelang mir niemals, eine reducirende Substanz aus dem Frauencaseïn abzuspalten. Ob statt dessen andere Gruppen vorhanden sind, müssen weitere Untersuchungen lehren.[2])

Bei dieser Gelegenheit sei es mir gestattet, mit einigen Worten auf eine Bemerkung von *E. Salkowski* über die Ausscheidung von Nucleïn bei der peptischen Verdauung des Caseïns einzugehen. Derselbe sagt nämlich,[3]) dass nach den Versuchen von Frl. *C. Willdenow* nicht zu bezweifeln ist, „dass unter gewissen Umständen, d. h. durch sehr schwach wirkende Verdauungsflüssigkeiten grössere Quantitäten von Nucleïn aus dem Caseïn erhalten werden können, mir ist es niemals gelungen, irgend erhebliche Quantitäten davon bei der Verdauung des Caseïns zu Gesicht zu bekommen, dasselbe trat stets als intermediäres Product auf. . . . Setzt man die Verdauung längere Zeit, über 5—6 Tage fort, so verschwindet das noch restirende Nucleïn vollständig und man erhält eine ganz klare Verdauungslösung.“ Im Hinblick auf diese Bemerkungen habe ich

---

[1]) Beiläufig sei hier der auffallenden Angabe in diesem Referate gedacht, nach welcher das von *v. Szontagh* benützte Kuhcaseïn „6,87 % Phosphorsäuregehalt“ besass.

[2]) *Salkowski.* — Ueber das Verhalten des Caseïns bei der Magenverdauung und Verseifung der Fette. Centralblatt für die medicinische Wissenschaft. 1893. Nr. 28.

[3]) *Salkowski.* Ueber das Verhalten des Caseïns bei der Magenverdauung und Verseifung der Fette. Centralbl. für die med. Wissenschaften. 1893. No. 28. Interessant ist es, dass schon *Makris* aus dem Verhalten des Frauencaseïns bei der Verbrennung schliesst, dass „der von *Lubavin* in dem Kuhcaseïn gefundene Gehalt an Nucleïn in der menschlichen Milch entweder gar nicht vorhanden ist oder wenigstens der Quantität nach gegen das Caseïn sehr zurücktritt.“ (Loc. cit. S. 33.)

einige Versuche von *C. Willdenow* wiederholt [1]) und dieselben vollständig bestätigt gefunden.

Um die Unabhängigkeit der Nucleïnausscheidung von der Concentration des Pepsins zu prüfen, wurden zwei Reihen von kleinen Proben angestellt. Die Resultate der ersten Versuchsreihe sind in folgender Tabelle geschildert:

No.	Gramm Pepsin	Gramm Caseïn	Verdauungs-Salzsäure	Verhalten bei Körpertemperatur nach 4 Stunden	nach $4^1/_2$ Stdn.	nach 6 Stunden	nach 21 Stunden
I.	1	0,5	20 cc.	Niederschlag entstanden	—	—	—
II.	0,5	0,25	20 cc.		—	—	—
III.	0,25	0,125	20 cc.		—	—	—
IV.	0,125	0,0625	20 cc.	kein Niederschlag	Niederschlag entst.	—	—
V.	0,0625	0,03125	20 cc.			—	—
VI.	0,03125	0,0156	20 cc.		kein Niederschlag	kl. Nied.	—
VII.	0,0156	0,0078	20 cc.			keinNied.	sehr kl. N.
VIII.	0,0078	0,004	20 cc.			kein Niederschlag	

Nach dem Verlaufe von 24 Stunden haben sich die Niederschläge verdichtet, in No. I hat sich ein solcher in verjüngter Form des Gefässes abgesetzt, in den anderen sind die Niederschläge flockig, in No. VIII ist kein merklicher Niederschlag zum Vorschein gekommen.

Nach dem Verlaufe von einem halben Jahre sind noch die Niederschläge in allen sieben Proben geblieben, vielleicht nur etwas kleiner geworden. Die Niederschläge und Flüssigkeiten in den concentrirten Proben haben sich im Laufe dieser Zeit bräunlich gefärbt. Es wurden die drei ersten Proben filtrirt und die Rückstände mit neuen 10 %igen Pepsinlösungen im Brütofen 3 Tage lang digerirt. Es löste sich davon fast gar nichts.

[1]) *Clara Willdenow.* Zur Kenntniss der peptischen Verdauung des Caseïns. 1893. Inauguraldissertation, gemacht bei Prof. *Drechsel.*

Noch eine Versuchsreihe wurde mit folgenden Pepsinquantitäten angestellt:

No.	Gramm Pepsin	Gramm Caseïn	Verdauungs-Salzsäure	Verhalten nach 2 Stunden	Verhalten nach 24 Stunden
I.	1,2	0,6	24 cc.	Niederschlag	—
II.	0,6	0,6	24 cc.	kein Niederschlag	Niederschlag
III.	0,3	0,6	24 cc.		
IV.	0,15	0,6	24 cc.		
V.	0,075	0,6	24 cc.		
VI.	0,0375	0,6	24 cc.		
VII.	0,01875	0,6	24 cc.		
VIII.	0,009	0,6	24 cc.		

Zu diesen Versuchen wurde das Caseïn sowohl, wie auch das Pepsin jedes für sich in Verdauungssalzsäure gelöst, die Lösungen filtrirt, gemischt und durch Zusatz von Verdauungssalzsäure auf 24 cc. gebracht. Nach Verlauf von 2 Stunden gab No. I schon einen gallertartigen Niederschlag, der die ganze Flüssigkeit erfüllte. Nach 24 Stunden waren in allen Gefässen solche Niederschläge zu constatiren, sie sanken allmälig zu Boden unter Beibehaltung der Form der Gefässe: dann schrumpften sie zusammen, und zwar, je weniger Pepsin in der Lösung vorhanden war, desto langsamer. Nach dem Verlaufe eines halben Jahres haben die bräunlich gewordenen Niederschläge sich nur sehr wenig verkleinert. Tüchtig geschüttelt, haben sie nach 3 Tagen anscheinend keine Volumverminderung erlitten. Die drei ersten Proben wurden filtrirt, ausgewaschen, in $\frac{1}{100}$ N. Natronlauge gelöst, mit überschüssiger Salzsäure gefällt, wieder filtrirt, ausgewaschen, auf einem Platindeckel mit Soda und Salpeter geschmolzen und die Schmelze mit Molybdänsäure auf Phosphorsäure untersucht. Dabei entstand ein starker gelber Niederschlag. Hieraus ergiebt sich, dass der bei der Verdauung ungelöst gebliebene Niederschlag stark phosphorhaltig war und demnach aus Paranucleïn bestand.

Dann habe ich aus einer Mischung 50 cc. 5 % iger Caseïnlösung und 50 cc. 10 % iger Pepsinlösung durch vorsichtigen Zusatz von sehr verdünnter Salzsäure das Caseïn mit sammt dem Pepsin ausgefällt, den gewaschenen Niederschlag in Verdauungssalzsäure gelöst und mit einer Controlprobe (ebenfalls eine Mischung von je 50 cc. obiger Lösungen direct mit Wasser und Salzsäure auf 250 cc. mit 0,27 % Salzsäure aufgefüllt) zusammen in den Brütofen gestellt. In beiden Proben bildeten sich voluminöse Niederschläge, die sich mit der Zeit verdichteten. Nach dem Verlaufe eines halben Jahres sind sie viel kleiner geworden, aber trotz öfteren Umrührens konnte man dieselben nicht zum Verschwinden bringen. Die Controlprobe hatte sich während dieser Zeit gebräunt, die andere dagegen war farblos geblieben. Es weist dies darauf hin, dass die braune Farbe bei allen diesen Versuchen nur von einer allmäligen Zersetzung des Zuckers herrührt; denn in der Controlprobe befand sich noch der Zucker des *Witte*'schen Pepsins, in der anderen war keiner mehr vorhanden. — Selbst als ich eine Lösung von 0,5 gr. Caseïn und 5 gr. Pepsin in 20 cc. Verdauungssalzsäure bei Brüttemperatur stehen liess, löste sich der entstandene Niederschlag im Laufe von 5 Monaten nicht völlig auf.

Da das *Merck*'sche Pepsin stärker auf Fibrin wirkte, als das *Witte*'sche Präparat, so habe ich auch mit ihm einen Versuch angestellt. In der That fand sich, dass der Niederschlag hier etwas stärker gelöst wurde, allein vollständig verschwunden war er auch nicht nach 5 Monaten. Da dieses Pepsinpräparat keinen Zucker enthielt, so fand auch keine Bräunung der Probe statt. Bemerkt sei noch, dass bei dieser Probe die grösste Pepsinmenge angewandt wurde.

Alle ausgeführten Versuche beweisen also, dass selbst die stärksten meiner Pepsinlösungen das gebildete Paranucleïn zwar nach dem Verlaufe einer langen Zeit theilweise lösen, nie aber zum vollständigen Verschwinden bringen konnten.

Da man sich das Paranucleïn als eine Verbindung der Paranucleïnsäure mit einem Eiweissstoffe vorstellen kann, so könnte man denken, dass das Eiweiss durch die Wirkung des Verdauungsferments allmälig aus dieser Verbindung abgespalten und gelöst wird, während die Paranucleïnsäure zurückbleibt.

Dass neben der Paranucleïnsäure noch Eiweissstoffe im frischgefällten Niederschlage sich befinden, ersehen wir daraus,

dass nach Lösen des Niederschlages in der Natronlauge und Fällen mit überschüssiger Salzsäure sich aus dem Filtrate ein kleiner Niederschlag mit Natronlauge erhalten lässt, ein Verhalten, welches die lange digerirten Proben nicht zeigen.

Kehren wir jetzt nach dieser Abschweifung zum Frauencaseïn zurück.

Es schien mir nicht ohne Interesse, die Wirkung des Kinderpepsins auf Frauencaseïn zu prüfen, da bis jetzt noch nicht festgestellt war, ob dasselbe die gleiche Wirkung auf Caseïn ausübt, wie das Pepsin des Schweinemagens. Diese Frage aufzuwerfen scheint nicht müssig, wenn man sich der Resultate erinnert, welche *Krukenberg* bei Verdauungsversuchen mit den peptischen Enzymen verschiedener Wirbelloser erhielt, und ebenso der Versuche von *Richet* mit dem Magensafte des Haies. Dieselben weisen deutlich darauf hin, dass die peptischen Enzyme verschiedener Thiere nicht unter einander völlig identisch sind, und so war auch wenigstens die Möglichkeit gegeben, dass auch das Pepsin des Kindes sich hinsichtlich seiner verdauenden Kraft irgendwie vom Pepsin des Schweinemagens unterschiede.

Zu meinen Versuchen habe ich frische Magenschleimhäute von Kindern, die nur mit Muttermilch ernährt worden waren, benützt. Eine solche Schleimhaut, gut mit Wasser gewaschen und mit einer blanken Scheere fein zerschnitten, wurde mit 100 cc. einer 2 % igen Salzsäure bis zum vollständigen Zerfallen bei Körpertemperatur digerirt und die Lösung dann filtrirt. So vorbereitete Kinderpepsinlösung war fast ebenso wirksam, wie eine auf diese Weise hergestelle Schweinepepsinlösung.

Solche Kinderpepsinlösung konnte aber nicht durch eine längere Zeit hindurch aufbewahrt werden, da sich nach einigen Wochen Pilze darin ansiedelten. Um ein dauerhaftes Präparat zu haben, liess ich einige Wochen lang die fein zerschnittenen Schleimhäute in Glycerin liegen. Die abfiltrirte Glycerinlösung zeigt dann stark verdauende Kraft.

Mit diesem Glycerin-Kinderpepsin habe ich zunächst Verdauungsversuche mit Frauencaseïn angestellt, allein ich erhielt dabei ebensowenig einen Nucleïnniederschlag, wie im Parallelversuche mit *Witte*'schem Pepsin.

Sodann habe ich Parallelversuche mit Kinder- und *Witte*'schem Pepsin, sowie mit künstlichem Schweinemagensaft bezüglich der

Verdauung von Kuhcaseïn angestellt. Um unter möglichst gleichen Verhältnissen zu arbeiten, habe ich zunächst die Wirksamkeit meiner peptischen Urlösungen auf gefärbtes Fibrin nach *Grützner* untersucht und nach den gewonnenen Resultaten dann die eigentlichen Verdauungslösungen hergestellt. Aber auch hier konnte ich prägnante Unterschiede in der Wirkung der verschiedenen Pepsine auf das Kuhcaseïn nicht beobachten; in allen Fällen entstand ein Nucleïnniederschlag, der beim Kinderpepsin vielleicht etwas feinflockiger war; diese Niederschläge lösten sich auch bei mehrmonatlicher Dauer der Digestion nur in geringem Maasse auf.

Endlich habe ich auch noch vergleichende Versuche angestellt über die Verdauung von Carminfibrin durch Kinder-, bezw. *Witte*'sches Pepsin in Gegenwart aequimolecularer Mengen verschiedener Säuren. Ein wirklicher Unterschied konnte nur insofern beobachtet werden, als das *Witte*'sche Pepsin in essigsaurer Lösung auch nach zwei Stunden keine Wirkung auf das Fibrin erkennen liess, das Kinderpepsin dagegen nach einer Stunde wenigstens eine schwache.

Auch bei Gegenwart von Milchsäure schien Kinderpepsin besser zu wirken als *Witte*'sches.

Immerhin sind zur endgültigen Entscheidung der Frage nach der Identität zwischen Kinder- und *Witte*'schem Pepsin noch weitere Versuche unerlässlich; leider bin ich durch äussere Umstände verhindert, sowohl diese auszuführen, als auch das Frauencaseïn selbst weiter zu untersuchen.

Körper aus der Mutterlauge der Essigsäurefällung.

Da das Frauencaseïn in Wasser nicht ganz unlöslich ist, so war zu vermuthen, dass die Mutterlaugen, aus denen man das Frauencaseïn nach der Dialyse durch Essigsäure gefällt hat, noch etwas davon enthielten. Um wo möglich diesen Antheil noch zu erhalten, habe ich diese Lösung von der Darstellung des Präparates No. IV mit Kochsalz gesättigt, und dabei einen weissen flockigen Niederschlag erhalten. Derselbe wurde abfiltrirt, erst mit kleinen Mengen Wasser, dann mit Alkohol und Aether gewaschen und über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet.

So gewonnen stellt der Körper ein rein weisses Pulver dar, welches sich in Alkalien leicht löst; Essigsäure erzeugt in dieser Lösung einen Niederschlag, aber die Flüssigkeit bleibt trübe.

Bei der Verdauung verhält er sich ähnlich wie das Frauencaseïn: es spaltet sich kein Paranucleïn ab.

Um ihn zu lösen verbraucht man für ein Gramm anstatt 93 cc. einer $^1/_{100}$ N. Natronlauge, die für Frauencaseïn nöthig sind, — 121,3 cc. Von der Verdauungssalzsäure ist zu demselben Zwecke 5 cc., anstatt 8,75 cc. nöthig. Diese Unterschiede sind bedeutend. Der Körper ist leichter in Salzsäure und schwerer in Natronlauge löslich, als Frauencaseïn.

Er giebt die Biuret-, Millon-, Xanthoproteïnreaction, wie auch die Reaction von *Adamkiewicz*.

Es ist auffallend, dass er sich ziemlich schwer bei Kochen mit concentrirter Salzsäure löst.

Schon aus den Versuchen über die Löslichkeit dieses Körpers in verdünnter Salzsäure und Natronlauge konnte man entnehmen, dass derselbe mit Frauencaseïn nicht identisch sei. und zu demselben Resultate führte die Elementaranalyse.

Der Körper enthielt 1,12 % Asche; die Elementaranalyse ergab, auf aschenfreie Substanz berechnet, folgende Werthe:

No. der Analyse	C	H	N	P	S	O
I.	44,86	7,30	15,11	0,79	4,82	—
II.	45,22	7,28	15,00	0,81	4,59	—
III.	44,96	7,36	15,10	—	—	—
Mittel	45,01	7,31	15,07	0,80	4,70	27,11

Unter den obigen Zahlen ist besonders der kleine Kohlenstoff- und grosse Schwefelgehalt auffällig. Der erste könnte auf die Anwesenheit eines Kohlenhydrates hindeuten, aber der Körper reducirt *Fehling*'sche Lösung nicht, auch nicht nach dem Kochen mit Salzsäure. Grosse Quantitäten des Schwefels können zur Asche nicht gehören, da die letztere im ganzen 1,12 % beträgt.

Eine Probe mit Bleiacetat, in alkalischer Lösung gekocht, zeigte nur einen geringen schwarzen Niederschlag. Daraus ist er-

sichtlich, dass die Menge des, als Schwefelwasserstoff abspaltbaren Schwefels nicht bedeutend sein kann.

Da ich den Körper, wegen Mangel an Zeit und Substanz nicht näher untersuchen konnte, so kann ich nicht behaupten, dass derselbe völlig rein erhalten wurde. Desshalb lässt sich auch aus den Analysen keine Formel für denselben mit Sicherheit ableiten; ich will aber doch nicht zu erwähnen unterlassen, dass sich aus obigen Werthen unter der Annahme von 1 Atom Phosphor im Molecül des Körpers, folgende Formel für denselben aufstellen lässt, welcher die gefundenen Zahlen überraschend gut entsprechen:

$$C_{150}\ H_{292}\ N_{43}\ P\ S_6\ O_{68}$$

Elemente		Berechnet %	Gefunden (Mittel) %
C_{150} =	1800	44,94	45,01
H_{292} =	292	7,29	7,31
N_{43} =	602	15,03	15,07
P =	31	0,77	0,80
S_6 =	192	4,79	4,70
O_{68} =	1088	27,16	27,11
Summa	4005	99,98	100,00

Wie man sieht, beträgt die grösste Differenz zwischen den gefundenen Mittelwerthen und den berechneten nur 0,09 %, welcher Unterschied doch vielleicht zu Gunsten der Reinheit des Präparates spricht.

Zum Schlusse sei es mir gestattet, die Resultate meiner Untersuchung nochmals kurz zusammenzufassen.

1. Es wurde eine neue Methode zur Darstellung des Frauencaseïns gefunden, welche jedenfalls ein ganz unverändertes, schneeweisses Präparat liefert.

2. Das erhaltene Frauencaseïn wurde zum ersten Male vollständig analysirt.

3. Die schon von Anderen beobachteten Verschiedenheiten von Frauen- und Kuhcaseïn hinsichtlich der Löslichkeit etc. wurden von mir durch Versuche an reinem Material bestätigt und erweitert.

4. Bei der peptischen Verdauung des Frauencaseïns spaltet sich aus demselben kein Nucleïn ab. Kuhcaseïn liefert dabei stets Nucleïn, welches auch bei sehr langer Verdauung nicht vollständig gelöst wird.

5. Frauencaseïn und Kuhcaseïn sind demnach chemisch verschiedene Substanzen.

6. Daraus folgt, dass es nicht vollkommen gleichgültig sein kann, ob ein Kind mit Kuh- oder mit Frauencaseïn ernährt wird, namentlich bei Schwäche der Verdauungsorgane.

7. Die Mutterlauge des Frauencaseïns enthielt noch einen Eiweisskörper, der sich durch seine Zusammensetzung namentlich vom Caseïn unterscheidet, und auch mit dem Albumin nicht identisch ist.

Analytische Belege.

Bei der Elementaranalyse meiner sämmtlichen Präparate habe ich die Verbrennungen im offenen Rohr in Porzellanschiffchen, zuletzt im Sauerstoffstrome ausgeführt.

Das Bleichromat wurde nach jeder Verbrennung frisch genommen.

Das Kupferoxyd, Bleichromat und eine oxydirte, hinter das Schiffchen gelegte Kupferspirale, wurden vor jeder Verbrennung im Rohre selbst, in einem langsamen, trockenen Luftstrome ausgeglüht.

Die bei 100^0—110^0 getrocknete Substanz wurde in gewogene Schiffchen eingeschüttet, im Exsiccator abgekühlt, dann mit den Schiffchenkappen bedeckt gewogen.

Nach jeder Verbrennung habe ich das Schiffchen mit der darin sich befindenden Asche gewogen und auf diese Weise das Gewicht der Asche, wie der aschenfreien Substanz ermittelt.

Ausserdem wurde die Asche von jedem Präparat durch vorsichtiges Verbrennen von 0,5 -1 gr. Substanz im Platintiegel bestimmt.

Zu den nach *Dumas* ausgeführten Bestimmungen des N in Präparat No. I und II wurden an einer Seite zugeschmolzene Röhren gebraucht. Als Kohlensäure-Entwickler diente Magnesit.

In den übrigen Präparaten habe ich den N nach *Kjeldahl* bestimmt. Die in den getrockneten Kölbchen gewogene Substanz wurde mit je 20 cc. concentrirter H_2SO_4 gemischt und bis zur völligen Entfärbung (mit Ausnahme von 2 Fällen, wo sie schwach

gelblich geblieben ist) ohne Hg-Zusatz gekocht. Zur Austreibung des Ammoniaks wurde 20 %ige stickstofffreie Natronlauge gebraucht. Durch zwei blinde Versuche mit einer stickstofffreien Substanz (Zucker) habe ich mich überzeugt, dass sämmtliche Reagentien frei von Stickstoff waren.

Soda und Salpeter, die zur Schwefelbestimmung genommen wurden, enthielten in der angewendeten Menge äusserst kleine Spuren von Schwefel.

Die Originalzahlen der im Anfang ausgeführten Analysen der Präparate No. I und No. II sind mir leider, mit den Rechnungen zusammen, verloren gegangen. Ich konnte desshalb nur die besonders notierten Resultate angeben.

Die übrigen Analysenresultate mit den Originalzahlen sind in folgenden Tabellen angegeben:

Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt.

Frauencaseïn No. des Präparates	Substanz	Asche	Aschenfreie Substanz (berechnet)	CO_2	C	H_2O	H
III.	0,4130	0,0043	0,4087	0,7885	52,52 %	0,2678	7,28 %
	0,3785	0,0038	0,3747	0,7190	52,33 %	0,2452	7,27 %
IV.	0,4217	— *)	0,4160	0,8017	52,56 %	0,2774	7,41 %
	0,2973	0,0040	0,2934	0,5625	52,29 %	0,1933	7,32 %
V.	0,3911	0,0086	0,3825	0,7254	51,72 %	0,2454	7,13 %
	0,2900	0,0064	0,2836	0,5400	51,93 %	0,1850	7,25 %
Mutterlaugekörper No. der Analyse							
1.	0,3411	0,0040	0,3371	0,5481	44,86 %	0,2190	7,30 %
2.	0,3280	0,0033	0,3247	0,5322	45,22 %	0,2097	7,28 %
3.	0,3743	0,0044	0,3699	0,6033	44,96 %	0,2421	7,36 %

*) Die Substanz blähte sich bei dieser Verbrennung so auf, dass die Asche ohne Verluste nicht gewogen werden konnte und desshalb wurde hier der Aschengehalt berechnet und abgezogen.

Stickstoffgehalt.

Frauencaseïn No. des Präparates	Substanz	Aschenfreie Substanz (berechnet)	$^1/_2$ N. H_2SO_4 in Vorl.	20cc. H_2SO_4 brauchten zur Neutr. Na HO	Nach Destil. zur Neutr. Na HO	N
III.	0,5595	0.5537	20 cc.	27,20 cc.	10,54 cc.	15,50 %
	0,5100	0,5047	20 cc.	27,20 cc.	12,37 cc.	15,12 %
IV.	0,5141	0,5071	20 cc.	27,20 cc.	12,58 cc.	14,84 %
	0,4502	0,4440	20 cc.	27,20 cc.	14,48 cc.	14,75 %
V.	0,4094	0,4004	20 cc.	27,20 cc.	15,48 cc.	15,06 %
	0,4542	0,4442	20 cc.	27,20 cc.	14,32 cc.	14,93 %
Mutterlauge-Körper No. der Analyse						
1.	0,3762	0,3720	20 cc.	27,20 cc.	16,28 cc.	15,11 %
2.	0,4207	0,4160	20 cc.	27,20 cc.	15,08 cc.	15,00 %
3.	0,5716	0,5651	20 cc.	27,20 cc.	10,63 cc.	15,10 %

Schwefel- und Phosphorgehalt.

Frauencaseïn No. des Präparates	Substanz	Aschenfreie Substanz (berechnet)	$Mg_2P_2O_7$	P	$BaSO_4$	S
III.	0,4952	0,4901	0,0114	0,645 %	0,0339	0,95 %
	0,5067	0,5015	0,0123	0,68 %	0,0365	1,00 %
IV.	0,5515	0,5440	0,0123	0,63 %	0,0340	0,86 %
	0,5779	0,5700	0,0133	0,65 %	0,0375	0,904 %
V.	0,3050	0,2983	0,0067	0,631 %	0,0332	1,53 %
	0,5865	0,5735	0,0137	0,667 %	0,0589	1,41 %
Mutterlauge-Körper No. der Analyse						
1.	0,3374	0,3336	0,0092	0,79 %	0,1171	4,82 %
2.	0,2781	0,2750	0,0080	0,81 %	0,0919	4,59 %

Zusammenstellung aller Aschenbestimmungen.

No. des Präparates		I.	II.	III.	IV.	V.	VI.	Mutterlauge-Körper
Im Tiegel	Substanz	0,5786	0,9001	0,5897	0,8750	0,6012	0,6955	0,5511
	Asche	0,0147	0,0254	0,0061	0,0122	0,0135	0,0079	0,0062
	%	2,54%	2,82%	1,035%	1,39%	2,25%	1,14%	1,124 %
Im Schiffchen		—	—	1,01%	1,33%	2,20%	—	1,16 %
		—	—	1,05%	—	2,19%	—	1,02 %
		—	—	—	—	—	—	1.18 %
Mittel		2,54%	2,82%	1,03%	1,36%	2,21%	1,14%	1,12%